Série A, n° 3438.
N° d'ordre : 4310.

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES PHYSIQUES

PAR

Simonne PELLETIER

1er *THÈSE.* — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES COMPLEXES MÉTALLIQUES DES AMINO-ACIDES.

2e *THÈSE.* — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 24 mai 1960 devant la Commission d'examen.

M. WURMSER, *Président.*
Mlle QUINTIN, M. BÉNARD. } *Examinateurs.*

CHARTRES
IMPRIMERIE DURAND
9, RUE FULBERT, 9

1960

Série A, n° 3438.
N° d'ordre : 4310.

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES PHYSIQUES

PAR

Simonne PELLETIER

1er *THÈSE.* — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES COMPLEXES MÉTALLIQUES DES AMINO-ACIDES.

2e *THÈSE.* — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le devant la Commission d'examen.

M. WURMSER, *Président.*
Mlle QUINTIN,
M. BÉNARD. } *Examinateurs.*

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

CHARTRES
IMPRIMERIE DURAND
9, RUE FULBERT, 9

1960

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

PROFESSEURS

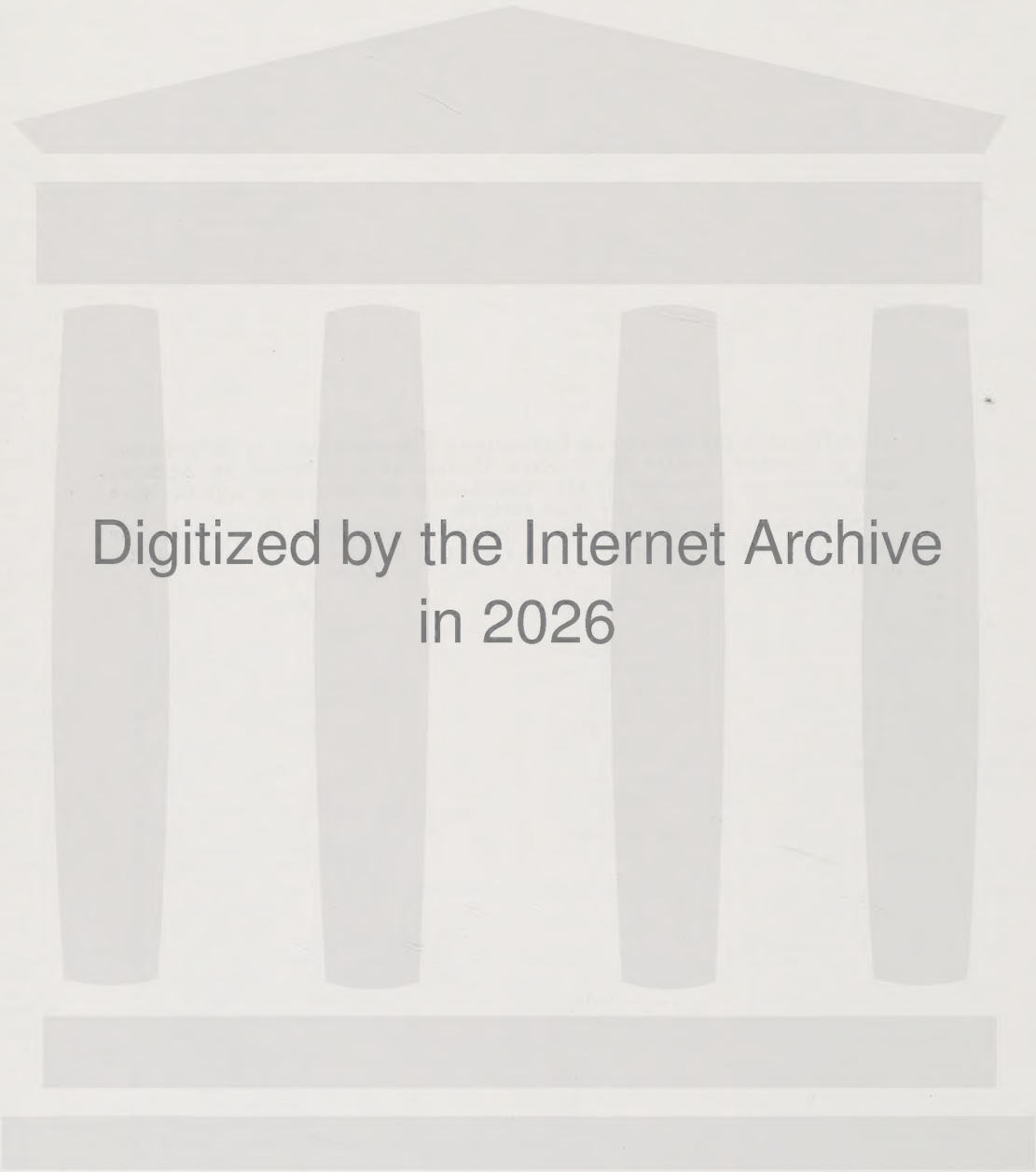
Doyen..... J. PÉRÈS.

G. JULIA	T	Analyse supérieure et Algèbre supérieure.
DE BROGLIE	T	Théories physiques.
PRENANT	T	Anatomie et Histologie comparées.
PÉRÈS	T	Mécanique des fluides et applications.
BARRABÉ	T	Géologie structurale et géologie appliquée.
J. BOURCART	T	Géographie physique et Géologie dynamique.
PLANTEFOL	T	Botanique.
GRASSÉ	T	Évolution des êtres organisés.
PRÉVOST	T	Chimie organique.
BOULIGAND	T	Application de l'analyse à la Géométrie.
CHAUDRON	T	Chimie appliquée.
WYART	T	Minéralogie.
TEISSIER	T	Zoologie.
MANGENOT	T	Biologie végétale.
P. AUGER	T	Physique quantique et Relativité.
MONNIER	T	Physiologie générale.
PIVETEAU	T	Paléontologie.
ROCARD	T	Physique (E.N.S.).
H. CARTAN	T	Mathématiques (E.N.S.).
LAFFITTE	T	Chimie générale.
FAVARD	T	Géométrie supérieure.
COULOMB	T	Physique du Globe.
Mlle COUSIN	T	Biologie animale (S.P.C.N.).
CHRÉTIEN	T	Chimie minérale.
P. DRACH	T	Zoologie.
KASTLER	T	Physique (E.N.S.).
EPHRUSSI	T	Génétique.
WURMSER	T	Biologie physico-chimique.
RIVIÈRE	T	Géologie (S.P.C.N.) (Orsay).
GAUTHERET	T	Biologie végétale (P.C.B.).
LUCAS	T	Recherches physiques.
A. THOMAS	T	Biologie cellulaire.
ARNULF	T	Optique appliquée.
M. MORAND	T	Enseignement de Physique.
SOLEILLET	T	Physique (P.C.P.).
FORTIER	T	Mécanique expérimentale des fluides.
DANJON	T	Astronomie.
PETIT	T	Biologie maritime.
QUENEY	T	Météorologie et dynamique atmosphérique.
GALLIEN	T	Embryologie.
EICHHORN	T	Biologie végétale (S.P.C.N.).
DE CUGNAC	T	Biologie végétale (S.P.C.N.).
Mlle CAUCHOIS	T	Chimie-Physique.
THELLIER	T	Physique du Globe.
L'HÉRITIER	T	Génétique.
GRIVET	T	Radioélectricité.
PONCIN	T	Mécanique générale.
DUBREIL	T	Arithmétique et théorie des nombres.
QUELET	T	Chimie organique.
CAGNIARD	T	Géophysique appliquée.
CHAMPETIER	T	Chimie macromoléculaire.
CUVILLIER	T	Géologie structurale et géologie appliquée.
JUNG	T	Pétrographie.
TRILLAT	T	Microscopie et diffr. électronique.
WIEMANN	T	Chimie organique et structurale.
JACQUINOT	T	Spectroscopie et Physique céleste.
VASSY	T	Physique de l'atmosphère.
DESTOUCHES	T	Théories physiques.
M. PRUVOST	T	Géologie.
AMIEL	T	Chimie générale.
HOCART	T	Minéralogie.
J.-P. MATHIEU	T	Physique (Option Orsay).
COUTEAUX	T	Biologie animale (P.C.B.).
MAY	T	Zoologie (Orsay).
CHOQUET	T	Théor. des fonctions et topologie.
FELDMANN	T	Biologie végétale marine.
GUINIER	T	Physique des solides.
JOST	T	Physiologie comparée.
FORTET	T	Calcul des probabilités et Physique Math.
SCHWARTZ	T	Calcul diff. et intégr.
CHOUARD	T	Physiologie végétale.
MALAVARD	T	Aviation.
BRELOT	T	Calcul différentiel.
NORMANT	T	Synthèse organique.
BÉNARD	T	Chimie minérale.
BUVAT	T	Botanique (E.N.S.).
DUGUÉ	T	Statistiques mathématiques.
GELOSO	T	Chimie (S.P.C.N.).
SOULAIRAC	T	Psychophysiologie.
ULRICH	T	Physiologie végétale.
MARÉCHAL	T	Optique théorique et appliquée.
KIRRMANN	T	Théories chimiques.
CHADEFAUD	T	Botanique.
DESTRIAU	T	Physique (M.P.C.).
Mlle Le BRETON ...	T	Physiologie générale.
SALEM	T	Mathématiques générales.
LELONG	T	Mathématiques générales.
DEVILLERS		Anatomie et Histologie comparées.
EHRESMANN	T	Topologie Algébrique.
FRANÇON	T	Physique (S.P.C.N.).
GLANGEAUD	T	Géographie physique et Géologie dynamique.
GODEMENT	T	Mathématiques (M.G.P.).
PISOT	T	Technique mathématique de la Physique.
E. ROCH	T	Géologie.
SCHATZMANN		Astrophysique.
TERMIER	T	Paléontologie stratigraphique.
ZAMANSKY	T	Mathématiques générales.
LENNUIER		Physique (M.G.P.).
RIZET		Génétique.
ROUTHIER.....		Géologie appliquée.
Mme TONNELAT	T	Relativité.
DIXMIER	T	Mathématiques (M.P.C.).
SOUCHAY	T	Chimie générale.
AIGRAIN	T	Électrotech. générale
BRUSSET		Chimie minérale.
M. LÉVY	T	Physique théorique des hautes énergies.
Mme CHAIX		Chimie biologique.
Mme HUREL-PY ...		Biologie végétale (P.C.B.).
PIAUX		Chimie (M.P.C.).
BRUN		Mécan. expér. des fluides.
LEDERER	T	Chimie biologique.
Mme DUBREIL	T	Mathématiques.
Mme LELONG	T	Mathématiques (E.N.S.).
BELLAIR	T	Géologie (S.P.C.N.).
COTTE	T	Physique (Orsay).
J. E. DUBOIS	T	Chimie organique.
LAMOTTE		Zoologie (E.N.S.).
A. MICHEL	T	Chimie (S.P.C.N.).
OLMER	T	Énergétique générale.
ROUAULT	T	Physique générale.
GAUTHIER	T	Mécanique appliquée.
BARCHEWITZ		Chimie physique.
BROSSEL		Physique atomique.
BUSER		Physiologie comparée.
CAMUS		Physiologie végétale (3e cycle).
CASTAING		Physique générale.
CURIEN		Minéralogie et Cristallographie.
MOYSE		Physiologie végétale (Orsay).
PANNETIER		Chimie (S.P.C.N.).
POSSOMPES		Zoologie.
PULLMANN		Chimie théorique.
TEILLAC		Physique nucléaire et Radioactivité.
TONNELAT		Biologie physico-chimique.
VILLE	T	Économétrie.
WILLEMART		Chimie (P.C.B.).
DODÉ	T	Chimie (S.P.C.N.) Orsay.
FREYMANN	T	Physique générale.
GUINOCHET	T	Biologie végétale (Orsay).
ROLLET	T	Chimie (P.C.B.).
Mlle JOSIEN	T	Chimie (P.C.B.).
CHEVALLEY	T	Géométrie Algébrique et théorie des groupes.
ARNOULT	T	Électronique.
CHAPELLE	T	Physique (M.P.C.) Orsay.
DELANGE	T	Mathématiques (Orsay).
DENY	T	Mathématiques (M.G.P.).
GERMAIN	T	Mécanique théorique des fluides.
G. LUCAS	T	Géologie.
ALLARD		Chimie Physique.
BERTHELOT		Phys. Nucl. et Radioactivité.
BRICARD.....		Météorologie et Phys. de l'atmosphère.
Mme ALBE-FESSARD		Psycho-Physiol.
FRIEDEL.....		Physique des Solides.
M. JULIA		Étude des Molécules organiques complexes.
LENDER		Biol. Animale (S.P.C.N.) Orsay.
MAGAT		Physico-chimie des Rayons.
Mlle QUINTIN		Électrochimie.
MONOT	T	Chimie du métabolisme.
BENOIT	T	Physiologie animale.
DE POSSEL	T	Analyse numérique.
CHARLOT	T	Chimie analytique.
HAISSINSKY	T	Radiochimie.

Secrétaire général..... C. MONIER

Ce travail a été effectué au Laboratoire d'Électrochimie de la Sorbonne sous la direction de M^lle M. QUINTIN, Professeur à la Faculté des Sciences de Paris, à qui j'exprime ici ma respectueuse affection ainsi que ma vive reconnaissance pour ses précieux conseils.

Je remercie également M. le Professeur WURMSER et M. le Professeur BENARD qui ont bien voulu me faire l'honneur de présider et de faire partie de mon jury de thèse.


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41538125_0017

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES COMPLEXES MÉTALLIQUES DES AMINO-ACIDES

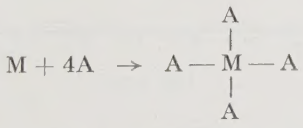
I. — Étude des complexes de la valine et de l'ion Ni^{++}

I. — INTRODUCTION

On peut diviser l'évolution de la chimie des complexes en quatre périodes : durant la première ou période « pré Werner » on isola des composés nouveaux plus ou moins stables résultant de la combinaison de deux ou plusieurs corps stables. On les appelait « composés d'addition » sans qu'aucune théorie satisfaisante puisse rendre compte de leur structure.

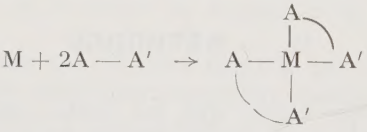
A partir de 1891 commence la deuxième période pendant laquelle Werner posa les principes essentiels de stéréochimie et définit le « nombre de coordination » ou nombre maximum d'atomes, radicaux ou molécules susceptibles de se combiner avec un atome central déterminé. Il entrevit même la possibilité d'arrangements octaédriques, tétraédriques, planaires ou linéaires. Il donna un tel élan à la chimie des complexes que dans la troisième période, de 1923 à 1932, les chercheurs s'occupèrent surtout à interpréter les résultats précédemment obtenus, enfin, dans la période moderne, on assiste à un développement considérable des connaissances relatives à cette classe de composés ; en appliquant les principes de la mécanique quantique aux complexes, Linus Pauling met en évidence les relations qui existent entre moment magnétique, moment dipolaire, spectres et structure.

Si une molécule (ou un ion) ne possède qu'un seul groupe susceptible de se lier avec le métal, le complexe résultant est dit complexe métallique



M représentant un ion métallique tétracoordonné, A l'agent complexant donneur d'électrons.

Si, au contraire, cette molécule (ou cet ion) possède plusieurs groupes capables de former des liaisons avec le métal le complexe est habituellement appelé « chélate »

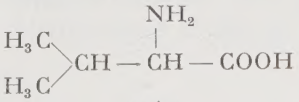


A —— A′ est l'agent chélatant.

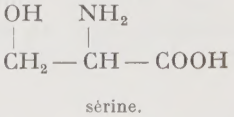
Morgan caractérisait par les termes « bidentate », « tridentate » et « quadridentate » l'agent chélatant possédant deux, trois ou quatre groupes donneurs d'électrons.

Une classification des métaux de transition d'après la stabilité des chélates formés avec les acides aminés, entreprise par de nombreux auteurs [1, 2, 3] etc., montre encore quelques lacunes, en particulier en ce qui concerne le nickel, c'est pourquoi nous avons choisi ce métal afin de préciser sa position dans cette classification.

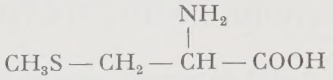
Parmi les acides aminés encore assez peu étudiés trois ont une structure qui semble permettre une détermination de l'influence de certaines substitutions sur la stabilité des complexes formés : ce sont des acides α aminés, le premier est un acide aminé classique en C 5, le 2e caractérisé par une fonction alcool et le 3e par la présence d'un atome de soufre



valine.



sérine.



méthionine.

L'étude de l'influence de la structure de l'agent chelatant a certes son intérêt, mais le problème essentiel est surtout d'évaluer la force et la nature des liaisons métal-aminoacide en déterminant les variations d'enthalpie, d'entropie et d'énergie libre mises en jeu lors de la formation de ces chelates; ces valeurs peuvent être atteintes en étudiant l'influence de la température sur les constantes de stabilité après avoir précisé, évidemment, pour chacun des acides aminés étudiés le nombre des complexes formés.

Enfin, après avoir étudié l'influence de la structure des acides aminés dans la formation des complexes grâce à la comparaison des complexes formés entre un même ion métallique et différents acides aminés, il faut mettre en évidence le rôle de l'ion métallique dans la complexion, c'est-à-dire entreprendre l'étude des complexes formés entre un seul acide aminé et le plus grand nombre possible d'ions métalliques. Nous avons choisi l'arginine parce que cet aminoacide, à notre connaissance, n'a pas encore été l'objet d'une telle étude.

II. — MÉTHODES

Il est bien connu que les acides aliphatiques simples existent surtout sous forme d'ion mixte ($R^{\pm}$) en solution aqueuse. Cet ion mixte, en solution acide, peut s'ioniser en une forme chargée positivement (R^{+}) tandis qu'en solution alcaline il se dissocie en donnant un chargé ion négativement (R^{-}); c'est ce dernier qui joue le rôle d'agent bidentate dans la formation des différents complexes Ni^{++} valine. Le nickel ayant une coordinance au maximum égale à 6, on peut théoriquement s'attendre à la formation de 3 chélates que nous chématiserons par NiR, NiR_2 et NiR_3 et qui représentent respectivement les complexes formés entre l'ion nickel et 1, 2, et 3 ions R^{-} de la valine.

Produits.

Les acides aminés employés (ici la valine) sont des produits Hoffman Laroche de pureté garantie, tous les autres produits (qualité R.P. Prolabo) ont été soigneusement recristallisés plusieurs fois.

Les solutions sont faites avec de l'eau bouillie bidistillée dans un appareil en quartz (conductivité $\simeq 1.10^{-6}$ mho/cm).

A. — MÉTHODE CONDUCTIMÉTRIQUE

La méthode conductimétrique permet de connaître le nombre exact et la formule des complexes formés en étudiant les variations de la conductibilité au cours de titrages de solutions de sel de nickel par la valine et inversement.

1° *Appareillage.*

La conductibilité est mesurée à l'aide d'un montage de Kohlraush. La source de courant est un émetteur à lampes Racia donnant les deux fréquences de 50 et 1 000 périodes par seconde. Nous nous sommes servis uniquement de cette dernière.

Le courant après passage à travers la cellule a dû être amplifié par un amplificateur à trois étages ayant un coefficient d'amplification pouvant aller jusqu'à 10 000 fois.

Le pont à fil est un pont enroulé Leeds et Northrup de haute précision (pont de 10 mètres avec possibilité d'adjonction de deux résistances terminales le transformant en pont de 30 mètres). La boite de résistance est une boite A.O.I.P. à 6 décades de précision à 0,1 %. Toutes les connexions sont faites en fils blindés dont les gaines sont reliées à la terre.

La température est maintenue constante à 0,01° près grâce à un thermostat à eau.

Les pH sont mesurés à 0,05 unité près avec un pH mètre Radiometer type 22.

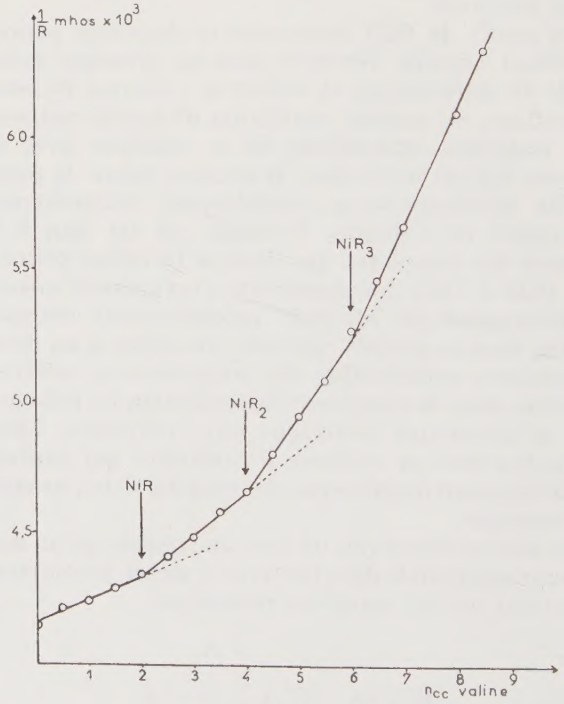


Fig. 1.

2° *Corrections.*

Les mesures de conductilibité ont été corrigées pour l'effet de dilution et il a été tenu compte de la

conductibilité des ions H^+ et OH^- (le pH des solutions est déterminé après chaque addition de réactif titrant).

3° *Résultats.*

Il est nécessaire que la différence entre les pH de début et de fin de titrage corresponde au domaine global d'existence des complexes; de plus, chaque addition de réactif doit faire varier le pH assez lentement, certains complexes n'apparaissant que dans une zone très étroite de pH. C'est pourquoi nous avons dû amener avant le début de chaque titrage les solutions à des pH convenables par addition de quelques gouttes soit de potasse soit d'acide nitrique et utiliser des réactifs de concentrations convenablement choisies. La figure 1 donne la courbe de titrage à 25 °C de 60 cm³ de $Ni(NO_3)_2$ 0,0042 M par la 1 (+) valine 0,125 M amenée préalablement à pH $\simeq$ 10,50. Trois points anguleux très nets traduisent l'apparition des trois complexes NiR, NiR_2 et NiR_3.

A titre d'exemple la figure 2 représente un titrage en sens inverse à 25° de 60 cm³ de 1 (+) valine 0,008 M (amenée à pH 10,50) par $Ni(NO_3)_2$ 0,125 M. Il fait apparaître également trois complexes NiR, NiR_2, et NiR_3 mais cependant, dans ce sens, les points anguleux sont moins nets. Ce résultat est d'ailleurs général et nous l'avons observé pour tous les acides aminés étudiés jusqu'à présent.

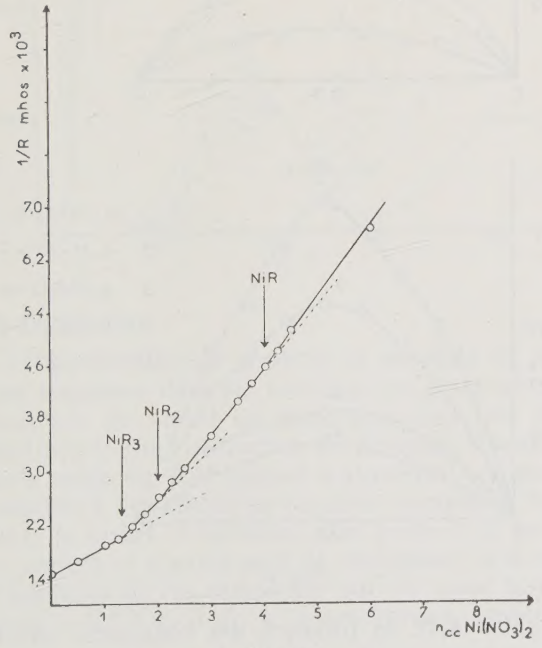


Fig. 2.

Nous pouvons donc conclure de façon certaine à l'existence de trois complexes formés entre le nickel et la *l* (+) valine.

B. — MÉTHODES SPECTROPHOTOMÉTRIQUES

La spectrophotométrie dans laquelle on mesure la densité optique $\Delta = \log I_0/I$ de la solution en fonction de la longueur d'onde λ permet la mise en évidence qualitative des complexes (méthode de Job) et la détermination des constantes de formation de ces mêmes complexes (méthode de Moore et Anderson).

1° *Appareillage.*

L'étude des spectres d'absorption dans la région 200-1 200 mμ a été faite en utilisant un spectrophotomètre Beckmann type D.U. et des cuves de silice de 1 cm d'épaisseur vérifiées et comparées entre elles avant les mesures.

2° *Méthode de Job.*

L'application de la méthode de Job [4] à différents mélanges sel de nickel, valine va permettre de mettre en évidence la formation de plusieurs complexes.

Considérons les solutions (dont le pH et la force ionique sont maintenus constants) contenant :

x cm³ $Ni(NO_3)_2$ a dans KNO_3, c, $(1 - x)$ cm³ l (+) valine a dans KNO_3, c, avec $c \gg a$ de façon à assurer la constance de la force ionique et avec $0 < x < 1$.

La solution de *l* (+) valine dans le nitrate de potassium ayant une absorption négligeable dans la zone de longueur d'onde étudiée, la densité optique Δ du mélange est égale à :

$$\Delta = \varepsilon_0 (Ni^{++}) + \varepsilon_1 (NiR) + \varepsilon_2 (NiR_2) + \cdots + \varepsilon_n (NiR_n)$$

$\varepsilon_0, \varepsilon_1, \varepsilon_2, \ldots \varepsilon_n$ représentant respectivement le coefficient d'extinction moléculaire de l'ion nickel et des complexes NiR, NiR_2 ... NiR_n et les valeurs entre parenthèses ( ) les concentrations molaires. (Bien que la méthode conductimétrique n'ait mis en évidence que trois complexes nous préférons écrire les équations dans le cas général afin de n'avoir aucune idée préconçue concernant le nombre des complexes).

Si aucune réaction n'avait lieu on aurait :

$$\Delta_0 = \varepsilon_0 ax$$

mais d'autre part :

$$ax = (Ni^{++}) + (NiR) + (NiR_2) + \cdots (NiR_N)$$

donc

$$\Delta - \Delta_0 = (\varepsilon_1 - \varepsilon_0)(NiR) + (\varepsilon_2 - \varepsilon_0)(NiR_2 + \cdots (\varepsilon_n - \varepsilon_0)(NiR_n)$$

à condition qu'un des complexes NiR_n par exemple, se trouve exister seul dans un certain domaine de pH

la courbe $\Delta - \Delta_0 = f(x)$ présentera un maximum lorsque la concentration de NiR_n sera maximum et l'abscisse, x_m, de ce point sera relié à n par la relation $n = \frac{1 - x_m}{x_m}$.

Remarque. — Dans le cas où plusieurs complexes (par exemple NiR et NiR_2) cœxistent en proportion importantes dans les mélanges, la courbe $\Delta - \Delta_0 = f(x)$ est maximum en même temps que NiR lorsque $\varepsilon_2 - \varepsilon_0 = 0$ et on montre que l'on a alors :

$$x_m = \frac{1}{2} + \frac{(NiR_2)}{a}$$

On montre également que le maximum des courbes $\Delta - \Delta x = f(x)$ mettant en évidence le complexe de la forme NiR_2 et devant normalement se produire pour $x = \frac{1}{3}$ est d'autant plus déporté vers $x = 0$ que la concentration du complexe NiR est plus importante.

Il sera donc peut-être possible en explorant différents domaines de pH et en traçant les courbes $\Delta - \Delta_0 = f(x)$ pour différentes longueurs d'onde de déterminer le nombre de molécules de valine liées à un atome de nickel.

Résultats expérimentaux.

Avant toute mesure nous avons vérifié que la solution de nitrate de nickel dans le nitrate de potassium suivait bien la loi de Beer entre 3 200 et 13 000 Å.

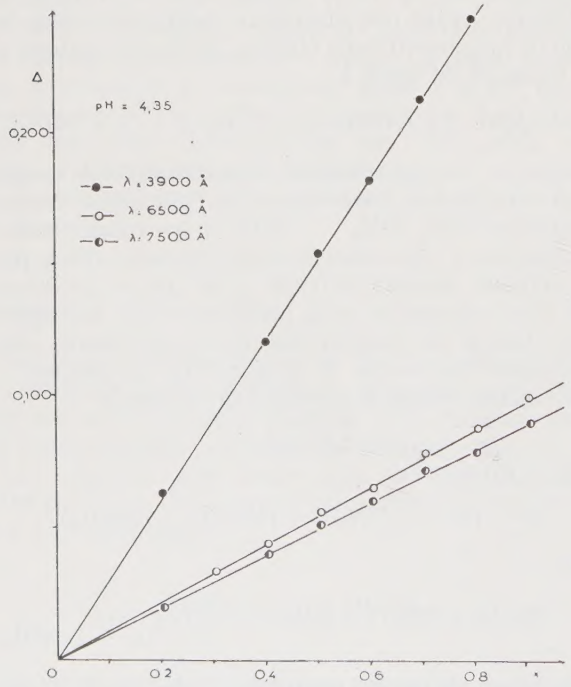


Fig. 3.

a) *Étude aux* pH *nettement acides.*

Jusqu'à pH = 4,35 il ne se forme aucun complexe ainsi qu'en témoigne le réseau de courbes $\Delta = f(\lambda)$ faites pour chaque valeur de x, tous les mélanges ayant la même coloration et le même spectre que le sel de nickel pur, c'est-à-dire présentant trois bandes, l'une étroite et dont le maximum très aigu est à 390 mμ, l'autre large et possédant 2 pointes (640, 750 mμ) et la 3e vers 1 150 mμ; de plus, pour chaque longueur d'onde l'absorption en fonction de la composition x est représentée par une droite (loi de Beer) rigoureusement superposable à celle relative au nitrate de nickel (fig. 3).

b) *Étude aux* pH *intermédiaires* (5,40 à 6,50 environ).

A pH = 5,42, seule la bande située vers 1 150 mμ se déplace légèrement.

Les courbes $\Delta - \Delta_0 = f(x)$ à différentes longueurs d'onde montrent un maximum pour $x = 0,5$ (fig. 4).

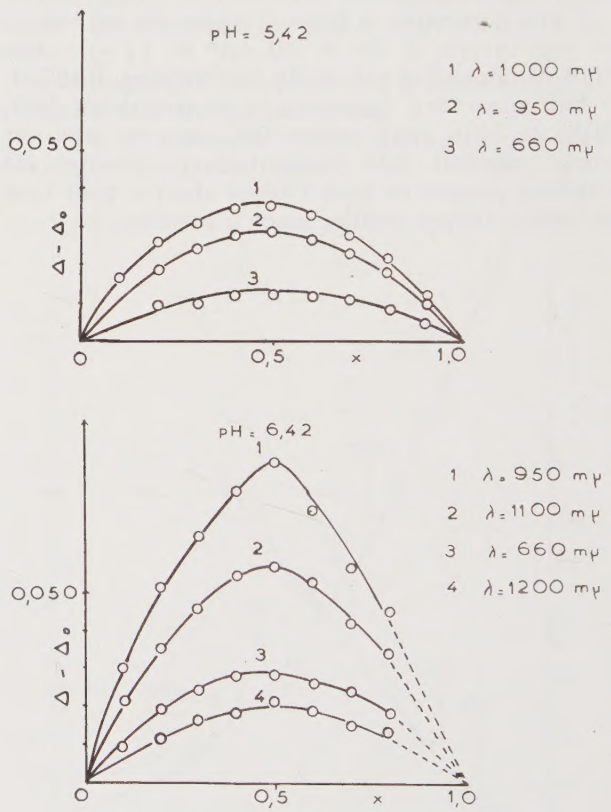


Fig. 4.

A pH = 6,42, la présence des complexes affecte de façon beaucoup plus sensible la position des maxima : gros déplacement vers les petites longueurs d'onde de la bande située à 1 150 mμ de plus les 2 maxima de la bande intermédiaire (640-750 mμ) tendent à s'aplatir et à se confondre en un seul. Les

courbes $\Delta - \Delta_0 = f(x)$ mettent toujours nettement en évidence le complexe de type 1 — 1 (fig. 4) cependant, pour certaines longueurs d'onde, le maximum est déplacé vers la gauche sans toutefois se produire exactement pour $x = 0{,}33$, il est vraisemblable qu'à ce pH, il se forme de faibles quantités d'un autre complexe qui est sans doute du type 1-2.

c) *Étude aux* pH *alcalins.*

Remarquons tout d'abord que, alors que le sel de nickel seul (solution verte) commence à précipiter vers pH = 6, les mélanges sel de nickel + valine ne précipitent que pour des pH beaucoup plus alcalins (solution devenue d'un bleu intense) ce qui indique la formation de complexe.

A pH 9 les spectres obtenus sont très différents de celui du sel de Nickel, malheureusement, seuls les mélanges correspondant à $x = 0{,}1$ et $x = 0{,}2$ ne précipitent pas, ce qui ne permet pas la détermination du maximum de la courbe $\Delta - \Delta_0 = f(x)$. La figure 5 donne quelques courbes $\Delta = f(\lambda)$ à différents pH pour une même valeur de x.

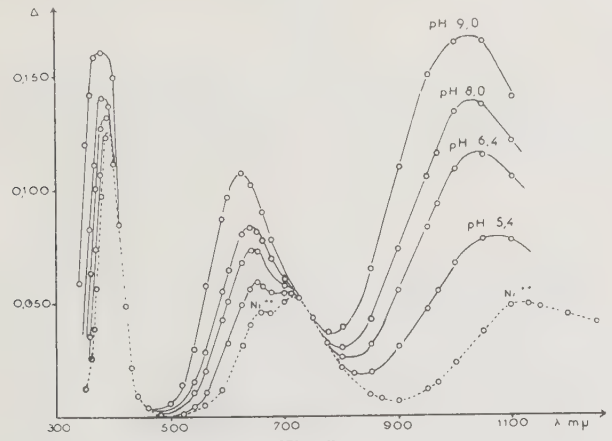


Fig. 5.

d) *Conclusion.*

L'impossibilité de mesurer la quantité de nickel non complexé dans les mélanges (le potentiel d'une électrode de nickel est beaucoup trop peu reproductible) limite l'utilisation des résultats obtenus par cette méthode. Elle permet seulement d'une part de conclure à l'existence de plusieurs complexes formés entre le nickel et la valine sans pouvoir en préciser le nombre et d'autre part de déterminer le domaine d'existence de ces complexes qui est assez restreint jusqu'à pH 4,45 il n'y a encore aucune complexion.

3° *Méthode de Moore et Anderson* ([5, 6]).

Cette méthode permet de mettre en évidence la formation de complexes entre le nickel et la valine et de plus elle en fournit les constantes de stabilité. Elle consiste à ajouter des quantités progressives d'agent complexant à une quantité constante d'un sel de métal susceptible de former des complexes ou vice versa. De la mesure de la densité optique de ces mélanges on peut déduire la formule et les constantes des complexes.

Soit a la concentration en mol.g/litre d'une solution de nitrate de nickel, faite dans du nitrate de potassium de concentration c, $c \gg a$ et b celle, variable, de la valine ajoutée (solution faite également dans KNO_3, c La gamme des mélanges réalisée est ainsi à la même force ionique.

On a dans le cas de la formation d'un seul complexe :

$$Ni^{++} + nR^- \rightleftharpoons NiR_n^{2-n} \qquad (1)$$

$$a = (Ni^{++}) + (NiR_n^{2-n}) \qquad (2)$$

$$b = (R^-) + (R^\pm) + n(NiR_n^{2-n}) \ (*) \qquad (3)$$

$$\frac{(NiR_n^{2-n})}{(Ni^{++})(R^-)^n} = K_n' \qquad (4)$$

$K'n$ étant la constante apparente de formation du complexe d'ordre n à la force ionique considérée. A ces équations nous devons adjoindre les deux relatives aux équilibres de dissociation de l'amino acide :

$$\frac{(R^\pm)[H^+]}{(R^+)} = K_A' \quad \text{et} \quad \frac{(R^-)[H^+]}{(R^\pm)} = K'_B \qquad (5)\ (6)$$

les crochets représentent les activités et les parenthèses les concentrations.

Si l'on désigne par Δ_0 la densité optique de la solution de $Ni(NO_3)_2$ et par Δ la densité optique du mélange $Ni(NO_3)_2$ — valine, on a :

$$\Delta_0 = \varepsilon_0 a = \varepsilon_0(Ni^{++}) + \varepsilon_0(NiR_n^{2-n})$$
$$\Delta = \varepsilon_0(Ni^{++}) + \varepsilon_n(NiR_n^{2-n}),$$

la valine n'absorbant pas dans le domaine de longueur d'onde étudié

$$\Delta - \Delta_0 = (\varepsilon_n - \varepsilon_0)(NiR_n^{2-n})$$

posons

$$y = \log(\Delta - \Delta_0) \qquad \text{et} \qquad x = \log b$$

on peut écrire alors :

$$y = \log(\Delta - \Delta_0 = \log(\varepsilon_n - \varepsilon_0) + \log(NiR_n^{2-n})$$

puis en différentiant l'équation ci-dessus par rapport à x on obtient :

$$\frac{dy}{dx} = \frac{nb}{(R^-)\left(1 + \frac{(H^+)}{K'_B}\right)} \cdot \frac{1}{(NiR_n)} \cdot \frac{1}{\frac{1}{(Ni^{++})} + \frac{1}{(NiR_n)} + \frac{n^2}{(R^-)\left(1 + \frac{(H^+)}{K'_B}\right)}}$$

(*) Au pH auquel nous avons opéré, les ions R^+ peuvent être considérés comme négligeables.

on montre qu'en début de titrage $\frac{dy}{dx} = n$ et qu'en fin de titrage $\frac{dy}{dx} = 0$.

La courbe $y = f(x)$ débutera donc par une portion de droite dont la pente donnera n puis se terminera par une autre portion de droite parallèle à l'axe des x.

Calcul de K.

1° En fin de titrage tous les ions Ni^{++} sont sous forme de complexe par conséquent : $(NiR_n) = a$

$$y_{\text{fin de titrage}} = \log(\varepsilon_n - \varepsilon_0) + \log a$$

2° En début de titrage, à un point quelconque P de la droite de pente n correspond une valeur de b connue soit b_p ainsi qu'une certaine quantité de complexe $(NiR_n)_p$

$$y_P = \log(\varepsilon_n - \varepsilon_0) + \log(NiR_n)_p$$
$$= y_{\text{fin de titrage}} - \log \frac{a}{(NiR_n)_p}$$

$(NiR_n)_p$ est par conséquent calculable, ce qui permet alors le calcul de $(Ni^{++})_p$, $(R^-)_p$ et enfin K'_n en utilisant les équations (2, 3, et 4).

On peut faire le calcul pour tout autre point de la droite de pente n, on doit trouver $K = Cte$.

Ce calcul n'est valable que dans le cas d'un seul complexe.

L'étude du titrage inverse (addition d'une quantité variable de nitrate de nickel à une quantité constante de valine) serait utile si l'on avait affaire à des complexes du type Ni_mR_n, on obtiendrait une courbe dont une partie rectiligne aurait la pente m. Nous n'avons pas fait ce genre de titrage car l'étude conductimétrique établit avec suffisamment de certitude que l'on ne doit pas considérer cette catégorie de complexes.

Notons que ceci suppose que la variation de la concentration de ou des complexes est uniquement liée à celle de l'agent complexant, il est donc nécessaire d'assurer la constance du pH pour un même titrage.

Résultats.

Nous avons étudié l'ensemble des mélanges suivant : 10 cm³ $Ni(NO_3)_2$ 0,2394 M dans KNO_3 2M + x cm³ valine 0,3580 M dans KNO_3 2M + [100 − (10 + x)] cm³ KNO_3 2M + quelques gouttes de KOH pour amener le pH à la valeur 6,50.

x doit être assez élevé en fin de titrage de façon que tous les ions Ni^{++} disponibles dans la solution soient complexés, il ne nous a pas été possible d'avoir les tous premiers points de la courbe de titrage, le nitrate de nickel précipitant dès pH 6,3.

La courbe représentée (fig. 6) met en évidence la présence du complexe Ni (valine) grâce à la pente 1

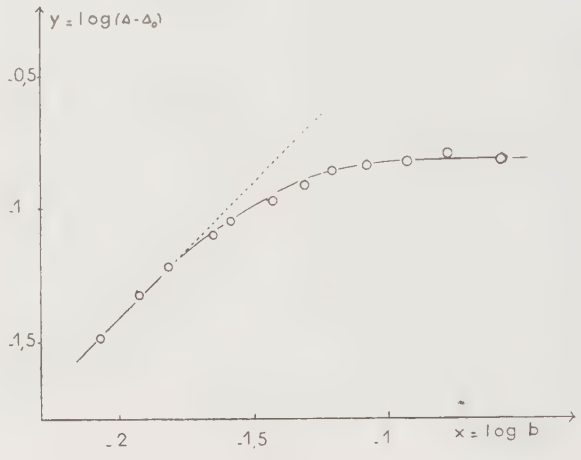


Fig. 6.

de la 1re partie rectiligne de cette courbe. La constante de formation de ce complexe s'obtient alors facilement :

$$K_1' = 5{,}16 \text{ à } 20\ ^\circ C \qquad \mu = 4M$$

Nous n'avons pu malheureusement mettre en évidence les complexes Ni $(valine)_2$ et Ni $(valine)_3$ car dans tout le domaine de longueur d'onde étudié les courbes obtenues présentent une partie rectiligne dont la pente est toujours égale à 1, jamais à 2 ni à 3. Il est donc vraisemblable qu'à ce pH, ces deux complexes sont formés en très petites quantités. D'ailleurs la couleur des mélanges correspondant à des valeurs de x élevées vire très légèrement au bleu vert alors que ces mêmes mélanges deviennent d'un bleu très intense lorsqu'on atteint des pH plus alcalins.

C. — ÉLECTROPHORÈSE SUR SUPPORT

On appelle électrophorèse le déplacement, sous l'influence d'un champ électrique, de particules chargées en solution.

Nous n'insisterons pas sur le principe de la méthode, disons seulement qu'une bande de papier filtre imbibée d'un tampon convenable T est suspendue dans une enceinte saturée de vapeur d'eau, chacune des extrémités de la bande de papier plonge dans un

vase contenant le tampon T et l'électrode amenant le courant. Une goutte de solution à étudier est déposée sur la bande de papier. Après un temps suffisant de passage du courant le papier est enlevé, séché rapidement puis traité avec le réactif convenable pour mettre en évidence les différents constituants de la substance soumise à l'électrophorése (ici ce sont Ni^{++}, NiR^{+}, NiR_2 et NiR_3^{-}).

Nous avons mis la goutte, sauf avis contraire, en cet endroit du papier appelé ligne neutre, caractérisé par un déplacement nul du tampon (on sait que sous l'influence du courant hydrodynamique et endosmotique le tampon se déplace, entraînant dans son mouvement la substance à étudier ce qui peut masquer, dans certains cas la migration de la substance sous l'influence du champ électrique).

L'appareil utilisé est un appareil suédois type LKB 3276 permettant d'appliquer des différences de potentiel comprises entre 0 et 400 volts. La séparation des substances à étudier peut se faire sur une longueur de 200 mm.

Résultats.

Nous avons soumis à l'électrophorèse, pour différentes valeurs de pH les mélanges suivants :

1 { valine 0,2 M 15 cm³ / $Ni(NO_3)_2$ 0,2 M 5 cm³ — 2 { valine 0,2 M 10 cm³ / $Ni(NO_3)_2$ 0,2 M 10 cm³

3 { eau 15 cm³ / $Ni(NO_3)_2$ 0,2 M 5 cm³ — 4 { eau 5 cm³ / valine 0,2 M 15 cm³

voici en fonction du pH les résultats obtenus (fig. 7) :

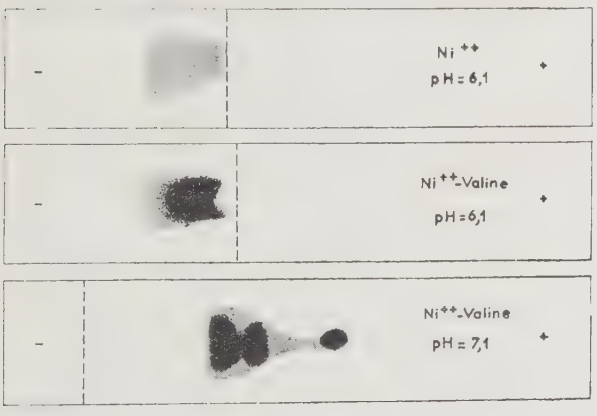


Fig. 7.

A pH = 6,1 : les mélanges 1 et 2 se comportent comme le sel de nickel (mélange 3) lorsqu'on les soumet à l'électrophorèse : tache unique se déplaçant vers le pôle négatif. Il y a toutefois une amorce de séparation qui est certainement due à la présence de NiR^{+} qui existe à ce pH (mise en évidence par spectrophotométrie). Les complexes NiR_2 et NiR_3^{-} n'apparaissent pas à ce pH ce qui est en bon accord avec les méthodes de Job et de Moore et Anderson.

A pH = 7,1 : Si on dépose la goutte du mélange 1 très loin de la ligne neutre on met en évidence de façon nette la présence de trois taches qui correspondent vraisemblablement à Ni^{++}, NiR^{+} et NiR_2.

Si l'on dépose la goutte à la ligne neutre on n'obtient aucune séparation.

A pH = 8,2 : On obtient en révélant le nickel par la diméthylglyoxime deux taches très séparées : l'une ne s'est pas déplacée sous l'influence du champ électrique puisqu'on la retrouve sur la ligne neutre où avait été déposée la goutte du mélange 1, elle est donc caractéristique du complexe non chargé NiR_2, l'autre tache qui s'est dirigée vers le côté négatif est constituée par des ions chargés positivement, c'est-à-dire par Ni^{++} et NiR^{+} ces deux derniers ne s'étant pas séparés. On a fait, à titre de comparaison, l'électrophorèse du sel de nickel seul (mélange 3) une seule tache est obtenue (*).

Remarque. — On a vérifié que les solutions étudiées ne précipitaient pas à pH 8,2.

A pH 10. — Il est impossible de faire l'électrophorèse du sel de nickel seul à ce pH parce qu'il y a précipitation. Après électrophorèse du mélange 1, on met en évidence deux taches (dont une semble ne pas s'être déplacée (NiR_2) et l'autre au contraire a subi un déplacement vers le pôle positif ce qui mettrait en évidence le complexe NiR_3^{-} à condition que le mélange initial ait bien été déposé à la ligne neutre, or cette dernière a été difficile à déterminer à ce pH (l'électroosmose est très importante à ce pH).

En conclusion, l'électrophorèse des mélanges Ni^{++} — valine met en évidence l'existence des complexes NiR^{+}, NiR_2 et vraisemblablement celle du complexe NiR_3^{-}. Il a donc été possible, bien qu'il y ait équilibre entre plusieurs complexes, d'obtenir une séparation de ceux-ci [7,8,9].

III. — CONCLUSIONS

De l'ensemble des résultats fournis par les méthodes employées ci-dessus, nous pouvons tirer les conclusions suivantes :

(*) L'électrophorèse des mélanges 3 et 4 a été faite d'une part pour vérifier la pureté des produits et d'autre part pour s'assurer qu'il n'y avait pas formation de complexes entre la solution à étudier et le mélange tampon.

Il existe trois complexes formés entre la valine et l'ion Ni^{++} que l'on peut schématiser par NiR, NiR_2 et NiR_3, ils sont mis nettement en évidence par la méthode conductimétrique et par électrophorèse.

Les méthodes spectrophotométriques n'ont pu prouver l'existence que de deux de ces complexes parce que leur emploi est limité par la précipitation, lorsque le pH s'élève, d'une partie des séries de mélanges étudiés mais il a été possible de déterminer la constante de formation de NiR :

$$\log K_1' = 5{,}16 \text{ à } 20\ ^{o}C, \quad \mu = 4M$$

II. — Détermination des constantes de formation des complexes Ni^{++}-valine à différentes températures. Mise en œuvre d'une nouvelle méthode électrométrique indirecte.

Alors que les méthodes exposées précédemment ne nous avaient donné que des résultats qualitatifs, les deux méthodes ci-dessous vont permettre de faire une étude quantitative complète des complexes Ni^{++}-valine. Mais il faut, tout d'abord, déterminer les constantes de dissociation de la valine dans les conditions de température et de force ionique réalisées dans la méthode électrométrique indirecte, ces valeurs n'existant pas dans la littérature.

Valeurs des constantes de la valine utilisées dans les calculs.

Pour les valeurs employées dans la fonction de formation, nous avons pu adopter les valeurs de Schmidt ([10]) et de Smith, A. T. Gorham et E. E. Smith ([11]) qui sont rassemblées dans le tableau suivant :

t °C	10°	17,5°	25°	30°	40°
$pK'_A = -\log K'_A$	2,33	2,32	2,32	2,32	2,32
$pK'_B = -\log K'_B$	10,04	9,82	9,62	9,49	9,25

K'_A et K'_B ont été définies précédemment (article précédent).

Par contre nous avons dû déterminer les valeurs des constantes K'_A et K'_B pour des forces ioniques élevées (conditions dans lesquelles a été utilisée la méthode électrométrique indirecte), ce qui nous a amené à étudier l'influence de la force ionique sur les constantes de disssociation de la valine. La figure 8 donne les résultats de cette étude.

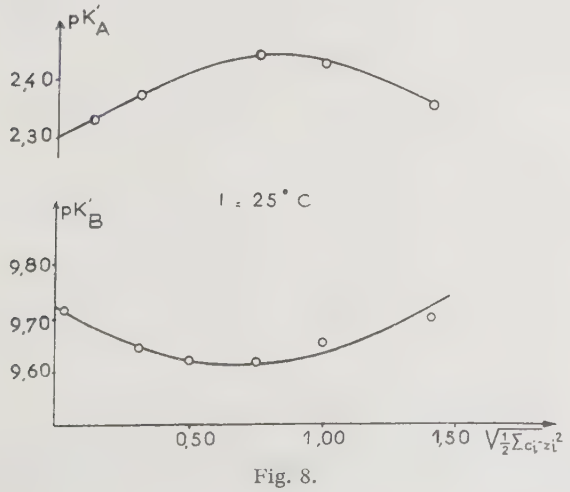


Fig. 8.

A. — MÉTHODE DE LA FONCTION DE FORMATION

Cette méthode est celle mise au point par J. Bjerrum ([12]) pour le calcul des constantes de formation de plusieurs complexes successifs, elle donne à partir d'expériences simples les constantes des complexes formés. Nous allons l'exposer brièvement car cette méthode est maintenant assez connue ayant été utilisée par de nombreux auteurs ([3, 13, 14]).

Il nous faut préciser, tout d'abord, quels sont les différents équilibres qui s'établissent au sein d'une solution contenant à la fois sel de nickel et valine.

1° *Formation des complexes à partir des ions* R^- *de l'aminoacide.*

Nous admettrons que les ions R^- de l'amino acide sont les principaux responsables de la formation des différents complexes, en effet, l'étude spectrophotométrique a montré qu'aux pH acides, il n'y avait aucune complexion, l'utilisation des ions R^+ est donc à éliminer, par conséquent les seuls ions à prendre en considération sont les ions $R^\pm$ et R^-.

Les équilibres suivants montrent comment se forment les trois complexes nickel-valine à partir des ions R^- par l'intermédiaire des ions R^+

$$Ni^{++} + R^\pm \rightleftharpoons NiR^+ + H^+ \qquad (I)$$
$$NiR^+ + R^\pm \rightleftharpoons NiR_2 + H^+ \qquad (II)$$
$$NiR_2 + R^\pm \rightleftharpoons NiR_3^- + H^+ \qquad (III)$$

les complexes NiR_2 et NiR_3^- peuvent aussi être obtenus directement suivant :

$$Ni^{++} + 2R^\pm \rightleftharpoons NiR_2 + 2H^+ \qquad (IV)$$
$$Ni^{++} + 3R^\pm \rightleftharpoons NiR_3^- + 3H^+ \qquad (V)$$

Les constantes globales de formation des complexes NiR^+, NiR_2 et NiR_3^- sont obtenues en appliquant la loi d'action des masses aux équilibres (I) (IV) et (V).

$$\frac{(NiR^+)[H^+]}{(Ni^{++})(R^\pm)} = \alpha_1' \quad (7) \qquad \frac{(NiR_2)[H^+]^2}{(Ni^{++})(R^\pm)^2} = \alpha_2' \quad (8)$$

$$\frac{(NiR_3)[H^+]^3}{(Ni^{++})(R^\pm)^3} = \alpha_3' \quad (9)$$

en tenant compte des équilibres de dissociation de l'acide aminé, les relations (7) à (9) deviennent :

$$\frac{\alpha_1'}{K_B'} = K_1' \quad (10) \qquad \frac{\alpha_2'}{K_B'^2} = K_2' \quad (11) \qquad \frac{\alpha_3'}{K_B'^3} = K_3' \quad (12)$$

2° *Fonction de formation.*

On effectue des titrages de mélanges acide aminé-nitrate de nickel par la potasse en déterminant le pH après chaque addition de base; parfois une certaine quantité d'acide a été ajoutée de façon à amener le mélange à un pH assez bas mais cette précaution s'est avérée inutile, la complexion ne commençant qu'à des pH voisins de 5.

Posons :

c_0 = concentration initiale en Ni^{++} [sous forme de $Ni(NO_3)_2$]
ac_0 = concentration initiale en H^+ (sous forme de HNO_3)
mc_0 = concentration initiale en acide aminé
xc_0 = concentration de potasse ajoutée a un instant donné

$$(Ni^{++}_{total}) = c_0 = (Ni^{++}) + (NiR^+) + (NiR_2) + (NiR_3^-) \quad (13)$$

$$(R_{total}) = mc_0 = (R^\pm) + (R^+) + (R^-) + (NiR^+) + 2(NiR_2) + 3(NiR_3^-) \quad (14)$$

Le nombre moyen $\bar{n}$ de groupements complexants liés à un atome central a été appelé par Bjerrum « fonction de formation » il est égal à :

$$\bar{n} = \frac{(NiR^+) + 2(NiR_2) + 3(NiR_3^-)}{c_0} \quad (15)$$

En tenant compte de la neutralité électrique de la solution et des relations (5, 6, 13 et 14) on démontre que n est égal à :

$$n = \frac{[xc_0 - ac_0 + (H^+) - (OH^-)]\left[1 + \frac{K_B'}{(H^+)} + \frac{(H^+)}{K_A'}\right]}{c_0\left[1 + \frac{2(H^+)}{K_A'}\right]} - m\frac{\frac{K_B'}{(H^+)} - \frac{(H^+)}{K_A'}}{1 + \frac{2(H^+)}{K_A'}}$$

Ainsi grâce à cette formule, on pourra calculer la fonction de formation en chaque point de la courbe obtenue en titrant par la potasse un mélange Ni^{++}, valine et en déduire le nombre maximum de complexes suivant que $\bar{n}$ varie de 0 à 2, de 0 à 3, 0 à 4 etc., mais malheureusement le fait que $\bar{n}$ atteigne la valeur maximum 3 par exemple indique seulement que le complexe NiR_3 se forme mais n'apporte aucun renseignement quant à l'existence des complexes intermédiaires NIiR et NiR_2. C'est pourquoi il est essentiel, avant d'utiliser la méthode de Bjerrum de déterminer exactement le nombre de complexes formés; nous avons vu que la méthode conductimétrique nous avait fourni ce renseignement.

Détermination des constantes de formation.

En remarquant que

$$mc_0 = (R^\pm) + (R^-) + (R^-) + nc_0$$

et en utilisant les relations (5) et (6) on peut atteindre (R^-) on a en effet :

$$(R^-) = \frac{c_0(m - \bar{n})}{1 + \frac{(H^+)}{K_B'} + \frac{(H^+)}{K_B'} \cdot \frac{(H^+)}{K_A'}}$$

En posant $p(R^-) = -\log(R^-)$ on construit la courbe $\bar{n} = f[p(R^-)]$ dite « courbe de formation » qui permet d'obtenir les valeurs des constantes de formation des complexes car on démontre que le nombre n est relié aux constantes de formation et à la concentration des ions (R^-) libres par la relation :

$$\bar{n} \cdot (n-1)K_1'(R^-) \quad (n \quad 2)K_2'(R^-)_2 + (\bar{n} - 3)K_3'(R^-)^3 = 0 \quad (16)$$

Il est utile de faire apparaître les constantes de formation successives des complexes NiR_2 et NiR_3^- définies par les relations ci-dessous :

$$\frac{(NiR_2)}{(NiR^+)(R^-)} \quad k_2' \qquad \frac{(NiR_3^-)}{(NiR_2)(R^-)} = k_3'$$

Ces nouvelles constantes sont reliées aux constantes globales de formation K'_2 et K'_3 par :

$$K_2' = k_1'k_2' \qquad K_3' = k_1'k_2'k_3'$$

En les introduisant dans (16) il vient

$$\bar{n}(n-1)k_1'(R^-) \quad (\bar{n} - 2)k_1'k_2'(R^-)^2 + (\bar{n} - 3)k_1'k_2'k_3'(R^-)^3 = 0 \quad (17)$$

Bjerrum a montré que, dans le cas général on peut obtenir une valeur approchée de la constante

d'équilibre du complexe NiR_n en supposant que pour $\bar{n} = n - 1/2$ (n étant le nombre de molécules d'acide aminé lié à un atome de nickel) on a des quantités à peu près égales de NiR_{n-1} et NiR_n, ce qui conduit aux expressions suivantes :

$$k_1' = \frac{1}{(R^-)_{\bar{n}=1/2}} \cdot \frac{1}{1 + 3(R^-)_{\bar{n}=1/2} k_2' + 5(R^-)_{\bar{n}=1/2} k_2' k_3'} \quad (18)$$

$$k_2' = \frac{1}{(R^-)_{n=3/2}} \frac{1 + \frac{3}{k_1'(R^-)_{\bar{n}=3/2}}}{1 + 3(R^-)_{\bar{n}=3/2} k_3'} \quad (19)$$

$$k_3' = \frac{1}{(R^-)_{\bar{n}=5/2}} \left(1 + \frac{3}{k_2'(R^-)_{\bar{n}=5/2}} + \frac{5}{k_1' k_2' (R^+)^2_{\bar{n}=5/2}}\right) \quad (20)$$

c'est-à-dire que, approximativement on a :

$$\log k_1' = p(R^-)_{\bar{n}=1/2}, \qquad \log k_2' = p(R^-)_{\bar{n}=3/2},$$
$$\log k_3' = p(R^-)_{\bar{n}=5/2}.$$

Ces valeurs approchées servent de point de départ pour poursuivre, par approximations successives, la résolution des équations (18, 19, 20) afin de déterminer les trois constantes.

Partie expérimentale.

On titre par la potasse des mélanges variés de valine, nitrate de nickel en déterminant le pH après chaque addition de base.

Les mesures de pH sont faites à l'aide d'un pH mètre Radiometer nº 3 à 0,01 unité près. Dans les milieux basiques une électrode de verre de qualité spéciale (Radiometer G 102 B) donne des mesures reproductibles jusqu'à pH 13. Les solutions sont traversées par un barbottage d'azote, ce gaz étant préalablement débarrassé de toute trace d'oxygène par purification aux sels de vanadium ([15]); signalons en outre que la concentration des solutions a été corrigée pour l'effet de température.

Résultats obtenus.

La figure 9 représente les variations du pH en fonction des additions de KOH lors du titrage du mélange suivant :

5 cm³ $Ni(NO_3)_2$ 0,125 M — 20 cm³ valine 0.125 M
1 cm_3 HNO_3 1,0 M — 24 cm³ H_2O bidistillée —

Remarquons que la présence de points d'inflexion sur cette courbe de titrage est en faveur de l'existence de complexes au sein de la solution.

Fig. 9.

La figure 10 donne la courbe de formation $n = f[p(R^-)]$ relative à ce même titrage. Cette courbe

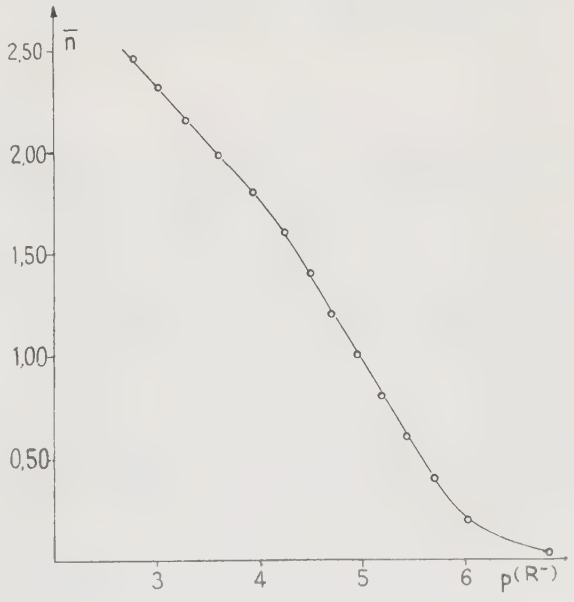


Fig. 10.

met en évidence la formation du complexe NiR_3 et

élimine l'hypothèse de l'existence de complexes d'ordre supérieur à 3 bien que la concentration de la valine dans ce mélange soit 4 fois plus grande que celle du nickel. Ce résultat est en bon accord avec celui de la méthode conductimétrique.

De nombreux titrages ont été faits et pour chacun d'eux plusieurs méthodes de calculs des constantes ont été utilisées, les résultats sont très concordants. Le tableau I groupe l'ensemble des résultats obtenus.

TABLEAU I

Valeurs des constantes de formation des complexes Ni (*valine*), Ni $(valine)_2$ *et* Ni $(valine)_3$.

t °C →	10° 0	18° 0	25° 0	30° 0	40° 0
log K'_1	5,62	5,53	5,45	5,37	5,31
log K'_2	10,10	9,88	9,72	9,53	9,39
log K'_3	12,76	12,71	12,20	11,96	11,71

Connaissant maintenant les constantes de formation à différentes températures, nous pouvons à l'aide des formules

$$\Delta G_0 = -RT \ln K = \Delta H_0 - T\Delta S_0$$

calculer les quantités thermodynamiques relatives à la formation des trois complexes NiR, NiR_2 et NiR_3 (ΔG_0, ΔH_0, ΔS_0 représentent respectivement les variations d'énergie libre, d'enthalpie et d'entropie).

Ces différents résultats sont rassemblés dans le tableau suivant :

TABLEAU II

Calcul des enthalpie, énergie libre et entropie de formations relatives aux trois complexes Ni (valine), Ni $(valine)_2$ *et Ni* $(valine)_3$.

	$Ni^{++} + R^- \rightarrow NiR^+$	$Ni^{++} + 2\,R^- \rightarrow NiR_2$	$Ni^{++} + 3\,R^- \rightarrow NiR_3^-$
$-\Delta H_0$ (k.cal.mole^{-1})	4,33	9,75	14,25
$-\Delta G_0$ (k.cal.mole^{-1})	7,43	13,25	16,63
ΔS_0 (cal.mole^{-1} deg $^{-1}$)	10,40	11,80	8,00

On constate que les enthalpies de formation des complexes de formation des complexes NiR_2 et NiR_3^- sont respectivement à peu près le double et le triple de celle relative à NiR^+.

Cependant nous ne pousserons pas maintenant plus avant l'examen de ce tableau, ceci fera ultérieurement l'objet d'une étude particulière dans laquelle nous comparerons nos résultats avec d'autres trouvés dans la littérature et relatifs aux chelates Ni^{++}-éthylènediamine et aux complexes $Ni^{++} - NH_3$.

B. — MÉTHODE ÉLECTROMÉTRIQUE INDIRECTE

L'impossibilité de mesurer les concentrations des ions Ni^{++} libres dans les mélanges sel de nickel-valine (le potentiel d'une électrode de nickel n'est pas reproductible) nous a interdit l'emploi de méthodes électrométriques et la détermination des constantes des chélates formés entre l'ion Ni^{++} et la valine a été effectuée en utilisant la seule méthode de Bjerrum; il était regrettable de ne pouvoir faire appel à un autre procédé permettant de confirmer les résultats obtenus, c'est pourquoi nous avons essayé de mettre au point une méthode qui puisse fournir les constantes cherchées. Cette méthode nécessite la connaissance des constantes de stabilité des complexes de la valine avec un métal dont il existe une électrode parfaitement réversible comme le cadmium, nous allons donc d'abord étudier les complexes formés entre le cadmium et la valine.

1° *Complexes* Cd^{++}*-valine.*

a) *Exposé de la méthode.*

Les complexes formés entre le cadmium et la valine ont déjà été étudiés par Perkins ([16]) par la méthode de Bjerrum. Nous avons repris cette étude en employant une méthode d'extrapolation utilisée par Mlle Quintin ([17]) pour les complexes existant en solution d'iodure de cadmium.

On sait qu'il existe au plus deux complexes valine-cadmium (coordinance 4 du cadmium et le groupement R^- de la valine est un groupement bidentate).

On a donc dans les solutions sel de cadmium valine les équilibres suivants auxquels correspondent les constantes apparentes K_1' et K_2' :

$$Cd^{++} + R^- \rightleftharpoons CdR^+ \qquad K'_{1(Cd)} = \frac{(CdR^+)}{(Cd^{++})(R^-)}$$

$$Cd^{++} + 2R^- \rightleftharpoons CdR_2 \qquad K'_{2(Cd)} = \frac{(CdR_2)}{(Cd^{++})(R^-)^2}$$

On fait deux séries de mélanges :

1° $(1 - x)$ cm³ $Cd(NO_3)_2$ à la concentration a + x cm³ KNO_3 à la concentration c;

2° $(1 - x)$ cm³ $Cd(NO_3)_2$ à la concentration a + x cm³ valine à la concentration a également.

Les solutions de nitrate de cadmium et de valine sont faites elles-mêmes en présence de nitrate de potassium à la concentration c, $c \gg a$. On ajuste au pH voulu avec quelques gouttes de base.

Pour chacun de ces mélanges, le Cd^{++} libre est mesuré en réalisant les chaînes suivantes auxquelles correspondent les f.e.m. E_I et E_{II}.

$$E_I - Cd(Hg)/(1-x)\ cm^3\ Cd(NO_3)_2\ a \text{ dans } KNO_3\ c + x\ cm^3\ KNO_3\ c \underset{\pi}{//} KCl\ sat./Hg_2Cl_2/Hg^+$$

$$E_{II} - Cd(Hg)/[(1-x)^3\ Cd(NO_3)_2\ a + x\ cm^3 \text{ valine } a] \text{ dans } KNO_3\ c \underset{\pi'}{//} KCl\ sat./Hg_2Cl_2Hg^+$$

π et π' sont les potentiels de diffusion correspondants aux deux jonctions liquides. Mlle Quintin a montré [17] que les potentiels de diffusion pour des chaines analogues devaient être sensiblement égaux. On aboutit dans ces conditions à :

$$\frac{E_{II} - E_I}{RT/2\mathfrak{F}} = \log \frac{a(1-x)}{(Cd^{++})} \qquad (21)$$

On a, de plus :

$$ax = (R^{\pm}) + (R^-) + (CdR^+) + 2(CdR_2)$$
$$= (R^-)\left(1 + \frac{[H^+]}{K_B'} + \frac{[H^+]}{K_B'} \cdot \frac{[H^+]}{K_A'}\right) + (CdR^+) + 2(CdR_2)$$

$$a(1-x) = (Cd^{++}) + (CdR^+) + (CdR_2)$$

K'_A et K'_B étant les deux constantes de la valine déterminées à partir de solutions faites en présence de sel neutre pour être à la même force ionique que celle des mélanges Cd^{++} valine.

$$(Cd_{comb.}) = a(1-x) - (Cd^{++}) = (CdR^+) + (CdR_2)$$
$$= K_1'_{(Cd)}(Cd^{++})(R^-) + K_2'_{(Cd)}(Cd^{++})(R^-)^2$$

(*) R calculé $= ax - Cd_{comb.}$

$$= (R^-)\left(1 + \frac{[H^+]}{K_B'} + \frac{[H^+]}{K_A'} \cdot \frac{[H^+]}{K_B'}\right) + (CdR_2)$$

pour chaque valeur de x on calcule

$$A = \frac{(Cd_{comb.})}{(Cd^{++})(ax - Cd_{comb.})} = \frac{K_1'_{(Cd)} + K_2'_{(Cd)}(R^-)}{1 + \frac{[H^+]}{K_B'} + K_2'_{(Cd)}(Cd^{++})(R^-)}$$

On remarque que :
quand

$$x \to 0\ (R^-) \to 0 \qquad A \to \frac{K_1'_{(Cd)}}{1 + \frac{[H^+]}{K_B'}}$$

et quand

$$x \to 1\ (Cd^{++}) \to 0\ (R^-) \to \frac{a}{1 + \frac{[H^+]}{K_B'}}$$

et $$A \to \frac{K_1'_{(Cd)}}{1 + \frac{[H^+]}{K_B'}} + K_2'_{(Cd)} \frac{a}{\left(1 + \frac{[H^+]}{K_B'}\right)^2}$$

On peut donc atteindre de cette façon les deux constantes $K_{1(Cd)}$ et $K_2'_{(Cd)}$.

b) *Étude expérimentale.*

Les mesures de f.e.m. (méthode électrométrique indirecte) sont faites à l'aide d'un potentiomètre A.O.I.P. au 1/10 de millivolt. L'électrode de référence est une électrode au calomel en solution de KCl saturé.

L'électrode de cadmium employée est un amalgame à 12,5 % Cd préparé par électrolyse d'une solution $CdSO_4$ 0,5 M entre anode de cadmium électrolytique et cathode mercure purifié (d.d.c. = 1 à 2 amp. par dm² d.d.p. = 20 volts); l'amalgame 2 phases est conservé sous azote dans la solution qui a servi à le préparer. Au moment de son utilisation il est chauffé au bain-marie à 70°, lavé d'abord à l'eau distillé bouillie, puis avec la solution à étudier.

c) *Résultats.*

La figure 11 montre, à titre d'exemple, la variation de log A en fonction de x, l'extrapolation pour $x = 0$ et $x = 1$ fournit

$$\log K'_{1(Cd)} = 3{,}80 \qquad \text{et} \qquad \log K'_{2(Cd)} = 7{,}13$$

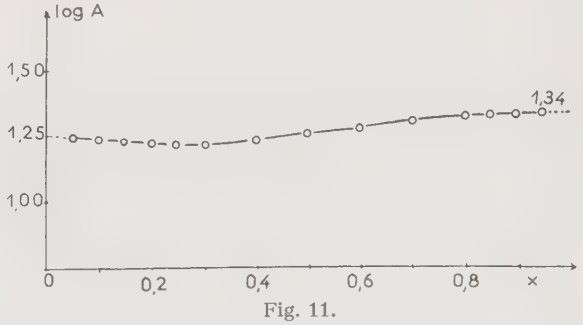


Fig. 11.

2° *Détermination des constantes de formation des complexes Zn^{++}-valine par la méthode électrométrique indirecte.*

a) *Principe de la méthode.*

On mesure la f.é.m. E_I et E_{II} des deux chaînes suivantes :

(I) $-Cd(Hg)/(1-x)\ cm^3\ Cd(NO_3)_2$, $2a$ dans $KNO_3\ c$, $+ (1+x)\ cm^3\ KNO_3\ c//KCl$ sat. Hg_2Cl_2, Hg^+

(*) Au pH voisin de 7 auquel nous avons toujours opéré, les ions R^+ sont négligeables et R libre est égal plus simplement à $(R^-)\left(1 + \frac{[H^+]}{K_B'}\right)$.

(II) $^{-}$Cd(Hg)/[$(1-x)$ cm^3 $Cd(NO_3)_2$, $2a$,
+ $(1-x)$ cm^3 $Zn(NO_3)_2$, $2a + x$ cm^3 valine $2a$]
dans KNO_3 $c + x$ cm^3 KNO_3 c//KCl sat. Hg_2Cl_2, Hg^+

La concentration des ions Cd^{++} libres dans chaque mélange x (x variant de 0 à 1) est obtenue par la relation (21).

On peut écrire les équations suivantes en négligeant, étant donné la valeur du pH, les ions R^+ de la valine :

$$ax = (R^-)(1 + [H^+]/K_B') + (CdR^+) + 2(CdR_2) + (ZnR^+) + 2(ZnR_2) \quad (22)$$

$$a(1-x) = (Zn^{++}) + (ZnR^+) + (ZnR_2) = (Cd^{++}) + (CdR^+) + (CdR_2) \quad (23)$$

La concentration des ions R^- est calculée, pour chaque valeur de x en résolvant des équations du genre :

$$K_1'_{(Cd)}(Cd^{++})(R^-)^2 + K_2'_{(Cd)}(Cd^{++})(R^-) \cdot [a(1-x) - (Cd^{++})] = 0$$

les constantes $K'_{1\,(Cd)}$ et $K'_{2\,(Cd)}$ ont été déterminées ci-dessus dans les mêmes conditions de température et de force ionique (CdR^+) et (CdR_2) sont calculables et l'équation (22) fournit la quantité

$$Z = (ZnR^+) + 2(ZnR_2)$$

on pose enfin

$$B = \frac{Z/2}{[a(1-x) - Z/2](R^-)}$$

et l'on démontre que

$$\lim B_{x \to 0} = K_1'_{(Zn)}/2$$

$$\lim B_{x \to 1} = \frac{K_1'_{(Zn)}/2 + K_2'_{(Zn)} \dfrac{a}{1 + [H^+]/K_B'}}{1 + \dfrac{K_1'_{(Zn)}}{2} \cdot \dfrac{a}{1 + \dfrac{[H^+]}{K_B'}}}$$

$K'_{1\,(Zn)}$ et $K'_{2\,(Zn)}$ étant les constantes de formation cherchées des complexes ZnR^+ et ZnR_2.

b) *Résultats.*

L'application de la présente méthode à la détermination des constantes de formation des complexes Zn (valine) et Zn (valine)$_2$ à 25 °C, $\mu \simeq 4$M a donné les valeurs suivantes :

$$\log K_1'_{(Zn)} = 4{,}60 \qquad \log K_2'_{(Zn)} = 9{,}06$$

3° *Validation de la méthode électrométrique indirecte.*

Cette méthode n'est valable que si le groupement complexant ne forme pas de pont entre les deux ions métalliques entrant en compétition ce qui introduirait un nouveau type de complexe dont il faudrait tenir compte. Pour se mettre à l'abri de cette critique, nous avons déterminé directement les constantes de formation des complexes Zn-valine en mesurant la concentration des ions Zn^{++} libres dans les mélanges sel de zinc-valine grâce à une électrode à amalgame de zinc, la méthode utilisée est identique à celle exposée ci-dessus pour la détermination des constantes de complexes Cd-valine. Les résultats sont les suivants :

$\log K_1'_{(Zn)} = 4{,}67$ $\log K_2'_{(Zn)} = 8{,}97$ (t = 25 °C, $\mu = 4$M)

On peut constater que ces résultats concordent très bien avec ceux fournis par la méthode électrométrique indirecte.

4° *Application de la méthode électrométrique indirecte à la détermination des constantes de formation des complexes* Ni-*valine.*

L'application de cette méthode à l'étude des complexes Ni^{++}-valine a fourni les résultats suivants :

$$\log K_1'_{(Ni)} = 4{,}50, \qquad \log K_2'_{(Ni)} = 9{,}23$$
$$t = 25\ ^\circ C, \qquad \mu \simeq 4M$$

C. — CONCLUSION

Les complexes Ni^{++}-valine ont été étudiés d'abord avec la méthode de Bjerrum puis avec une nouvelle méthode qui a l'avantage de permettre la détermination par électrométrie des constantes des complexes formés avec un ion métallique pour lequel il n'existe pas d'électrode réversible, à condition d'associer un autre métal (possédant une électrode réversible) dont les complexes avec le même agent complexant aient un domaine d'existence voisin de celui des complexes du premier métal, à condition également que ce deuxième métal soit placé convenablement par rapport au premier, dans l'échelle des potentiels de dépôts.

III. — Détermination des constantes de formation des complexes Ni^{++}-méthionine et Ni^{++}-sérine à différentes températures,

En utilisant les mêmes méthodes que celles dont nous nous sommes servis pour étudier les complexes formés entre l'ion Ni^{++} et la valine, nous allons maintenant aborder l'étude des complexes d'une part du système Ni^{++}-méthionine et d'autre part, du système Ni^{++}-sérine.

Appareillage et solutions.

Les appareils sont les mêmes que ceux utilisés précédemment (article II). La qualité des produits et la façon dont les solutions sont faites sont semblables à celles exposées dans notre étude des complexes Ni^{++}-valine.

A. — CONSTANTES DE DISSOCIATION DE LA MÉTHIONINE A DIFFÉRENTES TEMPÉRATURES

N'ayant pas trouvé dans la littérature les valeurs des constantes de dissociation de la méthionine à différentes températures nous les avons déterminées en éliminant pour chaque mesure de pH l'erreur causée par le potentiel de diffusion par la méthode due à MacInnes et ses collaborateurs ([18]). Considérons une pile du type :

VI — Ag/AgCl, HCl m/verre/solution d'acide aminé + acide fort ou base forte $//_{\pi}$ KCl sat./Hg_2Cl_2/Hg$^+$

le pH est donné à partir de la f.e.m. E d'une telle pile par la formule :

$$pH = \frac{E - E^0_{pH}}{2{,}3\frac{RT}{\mathcal{F}}} \qquad (24)$$

où E^0_{pH} est non un potentiel standard mais une constante qui englobe le potentiel de jonction π lequel ne peut être atteint directement. Pour pouvoir identifier la formule (24) avec $pH = -\log [H^+]$ il faut déterminer E^0_{pH}; pour parvenir on mesure la f.e.m. de piles analogues à (VI) dans lesquelles l'acide à étudier est remplacé par un acide de constitution voisine et dont les constantes sont connues avec précision. Nous avons choisi le glycocolle.

En désignant par $R^{\pm}$ et R^+ les deux formes en équilibre en milieu acide on a :

$$\frac{[H^+][R^{\pm}]}{[R^+]} = \frac{[H^+](R^{\pm})f_{R^{\pm}}}{(R^+)f_{R^+}} = K_A$$

où f_{R^+} et $f_{R^{\pm}}$ représentent les coefficients d'activité des formes correspondantes et K_A la constante vraie de dissociation. Or pour la force ionique μ de la solution, la relation de Hückel donne :

$$\log \frac{1}{f_{R^+}} = B\sqrt{\mu} - B'\mu \qquad (25)$$

où B est une constante ne dépendant que de la température et de la constante diélectrique du solvant et B' une constante dépendant de la nature de l'électrolyte. En supposant que $f_{R^{\pm}}$ est très voisin de 1, l'équation (24) peut alors se mettre sous la forme :

$$E - 2{,}3\frac{RT}{\mathcal{F}}\left(pK_A + \log\frac{(R^{\pm})}{(R^+)} + B\sqrt{\mu}\right) - E^0_{pH} - 2{,}3\frac{RT}{\mathcal{F}}B'\mu$$

le membre de gauche de cette équation est entièrement calculable, en le désignant par E^0_{pH} et en étudiant ses variations en fonction de μ on obtient une droite dans la mesure où l'équation (25) s'applique et l'ordonnée à l'origine donne E^0_{pH}.

En admettant que cette détermination de E^0_{pH} est valable pour l'acide inconnu, on peut alors à partir des courbes de titrages atteindre les constantes appa-

rentes K_A' et K_B' de celui-ci sans l'erreur dûe au potentiel de diffusion.

Le tableau suivant donne les valeurs des constantes de dissociation de la méthionine à différentes températures. La force ionique ($\pi \simeq 0{,}05$ M) est suffisamment faible pour que l'on puisse confondre les valeurs mesurées avec les constantes vraies.

TABLEAU III

t°C	10° 0	25° 0	30° 0	40° 0
pK_A	2,13	2,125	2,125	2,12
pK_B	9,73	9,28	9,15	8,92

à 25° les résultats expérimentaux non corrigés pour le potentiel de diffusion sont identiques à ceux obtenus par O. H. Emerson, P. L. Kirk, C. L. A. Schmidt ([19]).

Les variations de la constante d'équilibre K en fonction de la température absolue T permettent de calculer les quantités ΔH_0, ΔG_0 et ΔS_0 mises en jeu lors de la dissociation des groupes — COOH et — NH_3^+ (voir tableau ci-dessous).

On constate que les grandeurs thermodynamiques ΔH_0, ΔG_0 et ΔS_0 aussi bien pour la dissociation du groupe NH_3^+ que pour celle du groupe COOH sont voisines de celles obtenues pour le glycocolle, la valine et la sérine.

NiR_2 et NiR_3. Le titrage inverse n'a pas été donné ici mais il met en évidence trois ruptures de pentes qui correspondent toujours à NiR, NiR_2 et NiR_3.

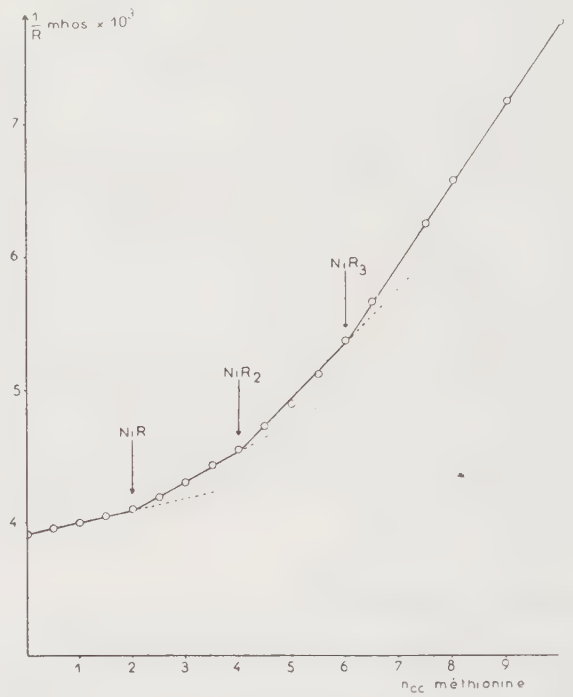


Fig. 12.

TABLEAU IV

Réaction	ΔH_0 (*k*cal.mole^{-1})	ΔG_0 (*k*cal.mole^{-1})	ΔS_0 (cal.degré$^{-1}$ mole^{-1}
$^+H_3N - R - COOH \rightleftharpoons {}^+H_3N - R - COO^+ + H^+$	0,14	2,90	— 9,3
$^+H_3N - R - COO^- \rightleftharpoons H_2N - R - COO^- + H^+$	10,40	12,60	— 7,5

B. — ÉTUDE DES COMPLEXES FORMÉS ENTRE LA MÉTHIONINE ET L'ION Ni^{++}.

1° *Étude conductimétrique.*

En employant la même technique que précédemment, on parvient à mettre en évidence 3 complexes formés entre la méthionine et l'ion Ni^{++}.

Résultats.

On effectue le titrage à 25° par la méthionine 0,125 M du mélange suivant : 2 cm³ $Ni(NO_3)_2$ 0,125 M
68 cm³ eau distillée
la figure 12 représente la courbe obtenue. Trois points anguleux traduisent l'apparition des complexes NiR,

2° *Étude spectrophotométrique.*

Signalons que la détermination des spectres d'absorption dans le visible et le proche ultraviolet de différents mélanges Ni^{++} méthionine a été faite, mais nous n'avons pas donné ici les résultats de cette étude car les spectres ont rigoureusement la même allure que ceux des complexes Ni^{++}-valine et Ni^{++}-sérine. Nous nous proposons d'effectuer ultérieurement une étude comparative des spectres de différents complexes du nickel.

3° *Détermination des constantes de formation des complexes* Ni^{++}*-méthionine à différentes températures.*

Nous utilisons toujours la méthode de la fonction de formation qui nous a conduit aux résultats suivants :

TABLEAU V

	10° 0	18,5°	22° 0	30° 0	40° 0
log K'_1	5,77	5,71	5,67	5,46	5,39
log K'_2	10,64	10,36	10,26	10,05	9,87
log K'_3	13,44	13,03	12,82	12,50	12,24

La connaissance des constantes des trois complexes permet de déterminer les variations d'enthalpie, d'énergie libre et d'entropie mises en jeu lors de la formation de ces complexes, valeurs rassemblées dans le tableau VI.

C. — ÉTUDE DES COMPLEXES FORMÉS ENTRE LA SÉRINE ET L'ION Ni^{++}

1° *Étude conductimétrique.*

En appliquant la méthode conductimétrique aux complexes de la sérine et de l'ion Ni^{++}, on met en évidence 3 complexes correspondant à NiR, NiR_2 et NiR_3. Nous avons effectué à 25° plusieurs titrages de solution de nickel par la sérine, cette dernière solution étant amenée à un pH voisin de 11.

La figure 13 représente à titre d'exemple la courbe relative au titrage par la sérine du mélange 4 cm³ $Ni(NO_3)_2$ 0,0625 M — 56 cm³ eau. Elle possède trois points anguleux très nets qui se produisent exactement pour des rapports sérine/nickel égaux à 1, 2 et 3 mettant ainsi en évidence les complexes NiR, NiR_2 et NiR_3.

La figure 14 reproduit le titrage à 25° du mélange 1 cm³ sérine 0,25 M-58,8 cm³ eau 0,2 cm³ KOH 1M par $Ni(NO_3)_2$ 0,0625 M. Là encore, trois points anguleux correspondent aux trois complexes mais celui relatif à NiR est moins net; nous avons d'ailleurs déjà signalé ce fait à propos de la valine.

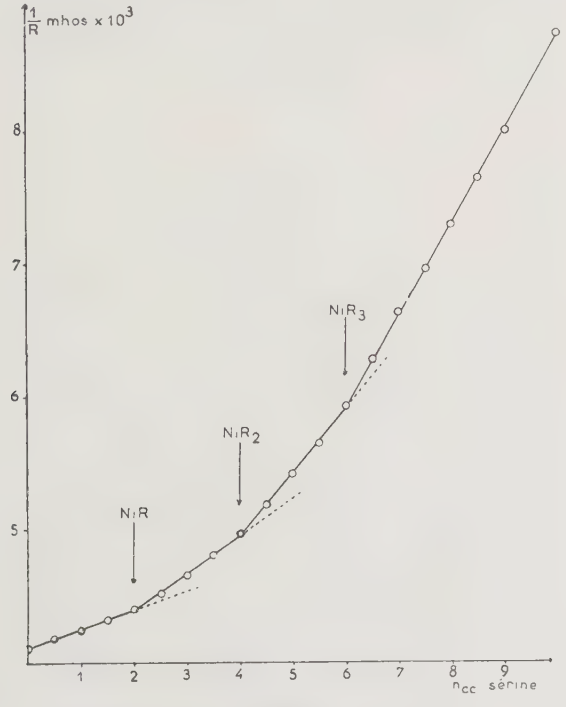


Fig. 13.

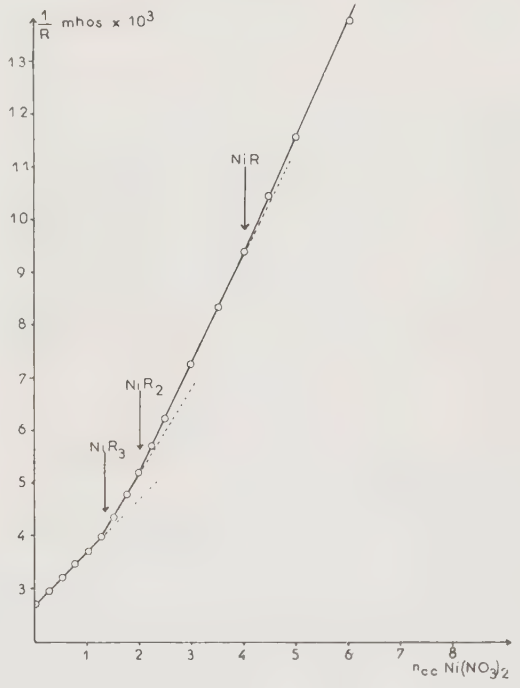


Fig. 14.

2° *Détermination des constantes de stabilité des complexes* Ni^{++}*-sérine à différentes températures.*

Comme dans le cas de la valine et de la méthionine nous avons employé la méthode de la fonction

TABLEAU VI

	$Ni^{++} + R^- \rightleftharpoons NiR_1^+$	$Ni^{++} + 2\,R^- \rightleftharpoons NiR_2$	$Ni^{++} + 3\,R \rightleftharpoons NiR_3$
$-\Delta H^0$ *kcal.mole*$^{-1}$	5,17	10,34	16,76
$-\Delta G^0$ *kcal.mole*$^{-1}$	7,58	13,90	17,49
ΔS_0 cal.mole^{-1}degré$^{-1}$	8,1	12,0	3,3

de formation et avons effectué de nombreux titrages par la potasse de mélanges $Ni(NO_3)_2$-sérine. La figure 15 donne à titre d'exemple, la courbe de

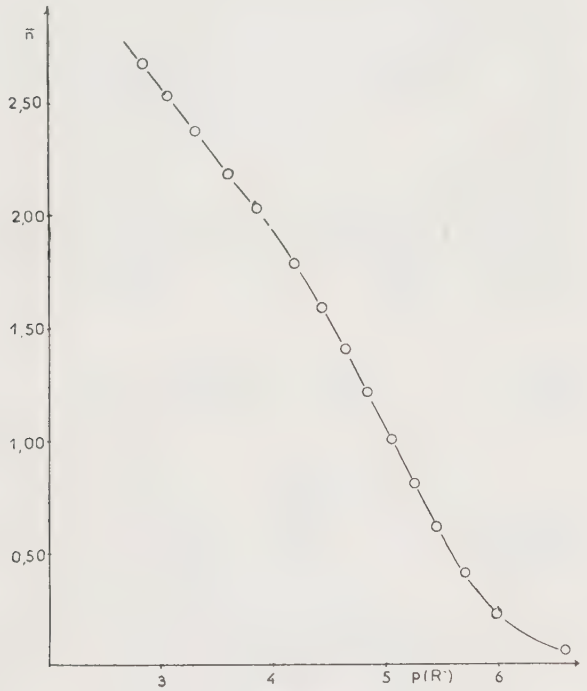


Fig. 15.

formation relative au titrage à 19,5 °C, par la potasse 0,5 M du mélange suivant :

2 cm³ $Ni(NO_3)_2$ 0,125 M — 10 cm³ sérine 0,25 M.
5 cm³ HNO_3 0,25 M — 33 cm³ eau.

on peut constater que $\bar{n}$ varie de 0 à 3 ce qui met en évidence la formation du complexe Ni (sérine)$_3$. On sait que la méthode de Bjerrum ne permet pas, à elle seule, de mettre en évidence les complexes intermédiaires NiR et NiR_2. C'est pourquoi il est nécessaire de déterminer avec une autre méthode, le nombre des complexes formés mais auparavant il faut préciser les valeurs des constantes de la série (11) que nous avons utilisées, elles sont rassemblées dans le tableau ci-dessous.

	10° 0	19,5°	25° 0	30° 0	40° 0
pK'_A	2,27	2,23	2,21	2,19	2,17
pK'_B	9,57	9,35	9,15	9,02	8,78

Enfin le tableau VII groupe les valeurs des constantes de formation des complexes Ni^{++}-sérine déterminées à différentes températures.

TABLEAU VII

	10° 0	19,5 °	25° 0	30° 0	40° 0
log K'_1	5,66	5,58	5,48	5,43	5,27
log K'_2	10,37	10,12	9,94	9,82	9,57
log K'_3	13,68	13,20	12,97	12,79	12,34

Connaissant les valeurs des constantes des trois complexes à différentes températures, on peut calculer les ΔH_0, ΔG_0 et ΔS_0 relatives à leur formation, ces valeurs sont consignées dans le tableau VIII.

Nous ne chercherons pas à apprécier maintenant la signification de ces valeurs; comme pour la valine et la méthionine elles feront l'objet d'une étude particulière et seront comparées à d'autres valeurs trou-

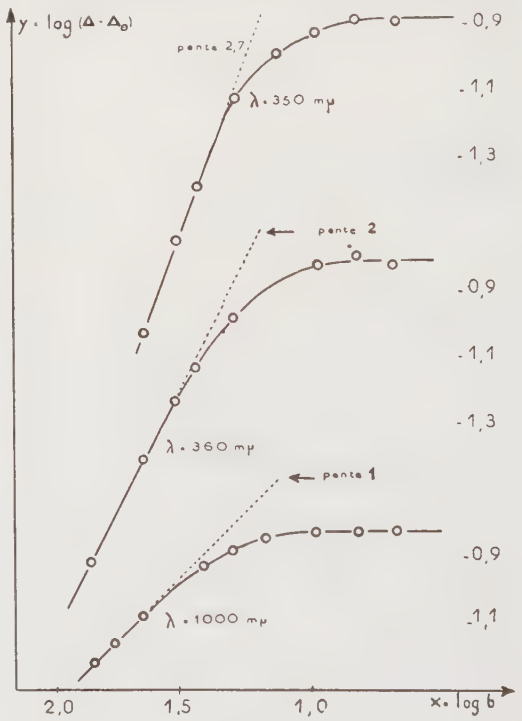


Fig. 16.

TABLEAU VIII

	$Ni^{++} + R^- \rightleftharpoons NiR^+$	$Ni^{++} + 2\,R^- \rightleftharpoons NiR_2$	$Ni^{++} + 3\,R^- \rightleftharpoons NiR_3^-$
$-\Delta H_0$ — (kcal.mole^{-1})	5,22	10,89	17,16
$-\Delta G_0$ — (kcal.mole^{-1})	7,42	13,56	17,69
$-\Delta S_0$ (cal.mole^{-1}.deg^{-1})	7,4	9,0	1,8

vées dans la littérature afin de rattacher les problèmes particuliers que nous nous sommes posés à la question générale du mécanisme de la chélation.

3° *Méthode de Moore et Anderson* (article I).

On mesure la densité optique des mélanges suivants :

10 cm³ $Ni(NO_3)_2$ 0,2566 M + x cm³ sérine 0,36 M
+ [50 — (10 + x)] cm³ eau + 50 cm³ KNO_3 1 M
+ quelques gouttes de KOH pour amener le pH à la valeur désirée.

Comme pour la valine il ne nous a été possible d'avoir les premiers points de la courbe de titrage le nitrate de nickel précipitant dans les premiers mélanges.

Les courbes représentées (fig. 16) ont bien l'allure prévue, elles mettent en évidence grâce aux valeurs des pentes des parties rectilignes la présence, dans les mélanges étudiés, des complexes NiR, NiR_2 et NiR_3; pour ce dernier, nous avons obtenu une pente qui tout en n'étant pas égale à 3 en est cependant très voisine. Il est probable que ce troisième complexe est formé en petite quantité à ce pH (6, 50).

Étant donné qu'il n'a pas été possible de trouver un domaine de pH dans lequel un des complexes existe seul et dans lequel également on ne soit pas gêné par la précipitation, nous n'avons pu calculer les constantes de formation des différents complexes par la méthode de calcul exposée précédemment.

D. — CONCLUSIONS

Ayant déterminé les valeurs des constantes de dissociation de la méthionine à différentes températures, nous avons pu constater que les quantités ΔH_0, ΔG_0, ΔS_0 relatives à la dissociation des groupes — COOH et $— NH_3^+$ de la méthionine sont du même ordre de grandeur que celles déterminées pour d'autres acides aminés comme le glycocolle et la valine.

Les méthodes conductimétriques, spectrophotométrique et de la fonction de formation conduisent à la conclusion suivante : il existe 3 complexes formés d'une part entre le Ni^{++} et la méthionine et d'autre part entre le Ni^{++} et la sérine. Les constantes de stabilité de ces différents complexes ont été déterminées à diverses températures ce qui a permis le calcul des variations ΔH_0, ΔG_0, ΔS_0 mises en jeu lors de la formation de ces complexes.

IV. — Évaluation de l'effet de chélation et du champ cristallin créé par les acides aminés sur les différents niveaux d'énergie de l'ion Ni^{++},

1° Effet de chélation.

Ayant déterminé précédemment les valeurs ΔH_0, ΔG_0, ΔS_0 relatives à la formation des complexes des systèmes Ni^{++}-sérine, Ni^{++}-valine et Ni^{++}-méthionine nous avons voulu les comparer avec d'autres résultats trouvés dans la littérature en particulier avec les travaux de Poulsen et Bjerrum ([20]) sur les complexes Ni^{++}-éthylènediamine et $Ni^{++} — NH_3$ (tableau IX). Nous pourrons ainsi évaluer d'une part les énergies de liaison dans ces différents modes de complexion puisque nous connaissons les valeurs des enthalpies de formation et d'autre part tous les facteurs de probabilité contrôlant la stabilité de ces complexes grâce aux entropies de formation

Le tableau IX permet de constater que, pour chacun des 3 acides aminés considérés, les enthalpies de formation correspondant aux différents complexes

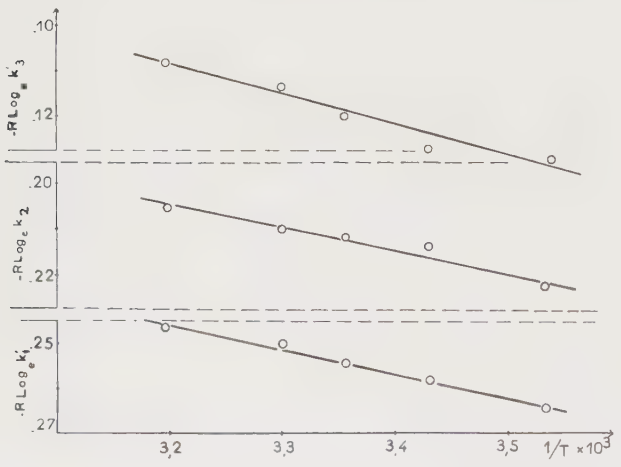


Fig. 17.

successifs sont du même ordre de grandeur. La figure 17 n'est que la traduction de ce fait, elle donne dans le cas de la méthionine les variations des quantités — $R \log_e k'_n$ (k'_n étant, rappelons-le, la constante apparente de formation du complexe d'ordre n à partir du complexe d'ordre immédiatement inférieur) en fonction de 1/T. T, température absolue. Les droites obtenues sont en effet presque parallèles. Il en est de même pour les complexes Ni^{++}-éthylènediamine et $Ni^{++} — NH_3$. Chaque étape de la complexion met donc en jeu la même variation d'enthalpie. Ceci semble être une loi générale qui gouverne tous les systèmes de complexes normaux au sens où l'entendent Irving et Williams ([2]) c'est-à-dire des systèmes dans lesquels il n'y a pas lieu de tenir compte d'empêchement stérique.

L'examen de ce même tableau montre aussi que les variations d'entropie accompagnant la formation des complexes NiR^+, NiR_2, $Ni(en)^{++}$, $Ni(en)_2^{++}$ sont positives ou très faiblement négatives tant que le nombre de groupements complexants n'excèdent pas deux (pour un chélate). Pour une valeur supérieure à 2 les variations d'entropie deviennent fortement négatives; ceci est certainement dû au départ de molécules d'eau cédées par l'ion $Ni(H_2O)_6^{++}$, ces molécules étant remplacées par les groupements complexants. Lorsqu'on veut ajouter une troisième molécule soit d'acide aminé, soit d'éthylènediamine pour former les complexes NiR_3^- ou $Ni(en)_3^{++}$ il y a une variation importante d'entropie comme si la déshydratation plus complète de l'ion était devenue un phénomène d'importance secondaire, d'autres modifications devenant prépondérantes; on peut penser avec Davies, Singer et Staveley ([21]) que la plus grande partie de cette diminution d'entropie serait dûe à une diminution du degré de liberté dans le mouvement de la molécule d'acide aminé ou d'éthylènediamine quand elle entre dans le complexe.

On pourrait imaginer aussi que dans le cas des chélates Ni^{++}-acide aminé, cette diminution d'entropie serait produite par un effet de charge; la charge

TABLEAU IX

	Système	log k'	$-\Delta G_0$ kcal. mole^{-1}	$-\Delta G'$ kcal. mole^{-1}	$-\Delta H$ kcal. mole^{-1}	ΔS cal. mole^{-1} degré$^{-1}$	$\Delta S'$ cal. mole^{-1} degré$^{-1}$
valine	$Ni^{++} + R^- \rightleftharpoons NiR^+$	5,45	7,43	9,79	4,33	10,4	18,3
	$NiR^+ + R^- \rightleftharpoons NiR_2$	4,27	5,82	8,18	5,42	1,4	9,3
	$NiR_2 + R^- \rightleftharpoons NiR_3^-$	2,48	3,38	5,74	4,50	— 3,8	4,1
sérine	$Ni^{++} + R^- \rightleftharpoons NiR^+$	5,44	7,42	9,78	5,22	7,8	15,7
	$NiR^+ + R^- \rightleftharpoons NiR_2$	4,50	6,14	8,50	5,67	1,6	9,5
	$NiR_2 + R^- \rightleftharpoons NiR_3^-$	3,03	4,13	6,49	6,27	— 7,2	0,7
méthionine	$Ni^{++} + R^- \rightleftharpoons NiR^+$	5,56	7,58	9,94	5,17	8,1	16,0
	$NiR^+ + R^- \rightleftharpoons NiR_2$	4,63	6,32	8,68	5,17	3,9	11,8
	$NiR_2 + R^- \rightleftharpoons NiR_3^-$	2,63	3,59	5,95	6,42	— 9,5	— 1,6
éthylène diamine	(*) $Ni^{++} + en \rightleftharpoons Nien^{++}$	7,51	10,23	12,59	9,01	4,1	12
	$Nien^{++} + en \rightleftharpoons Nien_2^{++}$	6,35	8,65	11,01	9,18	— 1,8	6,1
	$Nien_2^{++} + en \rightleftharpoons Nien_3^{++}$	4,42	6,02	8,38	9,71	— 12,4	— 4,5
ammoniaque	(*) $Ni^{++} + NH_3 \rightleftharpoons Ni(NH_3)^{++}$	2,71	3,70	6,06	3,5	0,7	7,2
	$Ni(NH_3)^{++} + NH_3 \rightleftharpoons Ni(NH_3)_2^{++}$	2,16	2,95	5,31	3,5	— 1,8	6,1
	$Ni(NH_3)_2^{++} + NH_3 \rightleftharpoons Ni(NH_3)_3^{++}$	1,65	2,25	4,61	3,5	— 4,2	3,7
	$Ni(NH_3)_3^{++} + NH_3 \rightleftharpoons Ni(NH_3)_4^{++}$	1,11	1,15	3,87	3,5	— 6,7	1,2
	$Ni(NH_3)_4^{++} + NH_3 \rightleftharpoons Ni(NH_3)_5^{++}$	0,67	0,91	3,27	3,5	— 8,7	— 0,8
	$Ni(NH_3)_5^{++} + NH_3 \rightleftharpoons Ni(NH_3)_6^{++}$	— 0,05	— 0,06	2,30	3,5	— 11,9	— 4,0

(*) Valeurs de Bjerrum et Ponlsen corrigées pour être à la même force ionique que celle réalisée dans notre étude.

variant de + 2 dans Ni^{++} à — 1 dans NiR_3^-. Latimer et Jolly [22] ont montré, dans le cas des complexes successifs de l'aluminium et du fluor, que chaque étape de la complexion s'accompagne d'une diminution d'entropie; cette diminution étant dûe, en partie, à l'effet de charge qu'ils ont d'ailleurs calculé. Cette explication serait séduisante si les travaux de Bjerrum sur les chélates éthylènediamine-Ni^{++} (dans lesquels l'effet de charge est nul, puisque l'éthylènediamine n'est pas chargée) ne mettaient également en évidence (tableau IX) une diminution d'entropie progressive depuis la formation de $Ni(en)^{++}$ juqu'à $Ni(en)_3^{++}$. Par conséquent, il faut bien admettre que l'effet de charge n'est pas prépondérant dans les variations d'entropie.

Si l'on définit comme Schwarzenbach [23] l'effet de chélation par la différence entre le logarithme de la constante de formation d'un complexe métal-agent bidentate et celui de la constante d'un complexe du même métal avec deux molécules complexantes indépendantes on a :

$$\text{effet de chélation} = \log k_1'(R^-) - \log k_1' k_2' \ (NH_3)$$

Le tableau X met en évidence une variation de stabilité qui est toujours positive, en outre, on voit que l'effet de chélation est plus prononcé pour les complexes du système Ni^{++}-éthylènediamine que pour les systèmes Ni^{++}-acides aminés étudiés. Ceci est normal car la liaison métal-COO dans un acide aminé est vraisemblablement plus faible que la liaison métal-N.

La question qui se pose alors est de savoir à quoi est dûe cette augmentation de stabilité, est-ce uniquement un effet d'entropie comme l'ont montré entre autres Scharzenbach [23], Spike et Parry [24] qui supposent que le gain de stabilité serait dû à des facteurs de probabilité : le second groupement d'un ligand bidentate a beaucoup plus de chances

TABLEAU X

	Valine	Sérine	Méthionine	Éthylènediamine
$\log k'_1(R^-) - \log k'_1 k'_2(NH_3)$	0,58	0,57	0,69	2,64
$\log k'_2(R^-) - \log k'_3 k'_4(NH_3)$	1,51	1,74	1,87	3,59
$\log k'_3(R^-) - \log k'_5 k'_6(NH_3)$	1,86	2,41	2,01	3,80

de se lier à un ion métallique qu'une seconde molécule d'ammoniaque dans un complexe simple.

Cependant il faut remarquer ([12, 25]) que bien que non explicitée l'eau prend part à la réaction : l'ion en solution est hydraté et un groupement complexant remplace une molécule d'eau. D'où nécessité de corriger les valeurs de ΔG_0 et ΔS_0 en introduisant la concentration de l'eau dans la constante d'équilibre et en tenant compte de la différence Δn entre le nombre de molécules produites et celui des molécules réagissantes.

Les formules de conversion sont les suivantes à 25°

$$\Delta G' = \Delta G + \Delta n\, RT \log_e 55{,}5 = \Delta G + 2{,}36\, \Delta n$$
$$\Delta S' = \Delta S - \Delta n\, RT \log_e 55{,}5 = \Delta S - 7{,}9\ \Delta n$$

les nouvelles valeurs $\Delta G'_0$ et $\Delta S'_0$ ainsi déterminées montrent que la part revenant à l'entropie dans l'effet de chélation sans s'annuler diminue beaucoup.

2° Influence de la structure de l'aminoacide dans la chélation.

Les trois acides aminés que nous avons étudiés étaient, rappelons-le, le premier la valine, un acide α-aminé très classique, le second, la sérine, un acide α-aminé renfermant une fonction alcool et le troisième également un acide α-aminé caractérisé par la présence d'un groupement $CH_3 - S -$. En rapprochant les valeurs des constantes successives de formation des 3 complexes pour chaque système (tableau IX) il est possible de tirer des conclusions quant au rôle joué par ces groupements. Il apparaît clairement qu'ils n'en ont aucun : en effet, une comparaison des constantes de formation des complexes de la valine et du nickel d'une part, de la méthionine et du nickel d'autre part prouve que les groupements de liaison dans la méthionine sont les mêmes que dans la valine à savoir $- NH_2$ et $- COO^-$ ceci est en bon accord avec les résultats de Gonnick, Fernelius et Douglas ([26]) qui ont donné les valeurs suivantes pour les complexes formés entre

Ni^{++} et $CH_3S\,CH_2\,CH_2\,NH_2$ $\log k_1' = 3{,}23$ (à 30°)
Ni^{++} et $H_2N\ CH_2\,CH_2\,NH_2$ $\log k_1' = 7{,}52$ (à 30°)

ce qui montre bien que le groupe NH_2 se lie plus fortement qu'un groupe $CH_3 - S -$. Comme le nombre des chélates formés est 3 aussi bien pour la valine que pour la méthionine et que le nombre de coordination maximum de l'ion Ni^{++} est 6, nous pouvons affirmer que le groupe $CH_3 - S -$ de la méthionine n'est pas compris dans la liaison. Li et Manning ([27]) sont parvenus à la même conclusion en étudiant les complexes du zinc et de la méthionine.

Un rapprochement analogue fait entre les constantes de formation des complexes Ni^{++}-valine et celles des complexes Ni^{++}-sérine montrent qu'elles sont voisines, par conséquent le groupement OH n'a aucune influence dans la complexion.

3° Influence du champ cristallin créé par les acides aminés sur les différents niveaux d'énergie de l'ion Ni^{++}.

On a pu constater (fig. 5) 1° que le nickel seul (sous forme d'ions $Ni(H_2O_6)^{++}$ présente trois bandes dont une est double (650-730 mμ); 2° que cette double bande se confond en une seule lorsque le nickel est complexé par la sérine ou la valine, de plus, les maxima des trois bandes sont déplacés vers les petites longueurs d'onde. Il est donc bien évident que le fait de remplacer des molécules d'eau par des molécules de sérine, par exemple, entraîne une modification importante dans le spectre de l'ion libre. Il s'agit de déterminer quelles sont les perturbations électroniques responsables de ces changements. Or la connaissance de la structure électronique des ions complexes de forme MR_3 où M est un ion métallique à couche *d* incomplète comme le nickel et R un groupement bidendate pose un problème délicat que l'on peut à l'heure actuelle essayer de résoudre en utilisant deux théories :

1° la théorie de la liaison chimique développée d'abord par Pauling, puis par Mulliken ([28]) en utilisant la méthode des orbitales moléculaires;

2° la théorie du champ cristallin que nous utiliserons ici et qui découle du mémoire fondamental de Bethe ([29]). Elle permet de rendre compte de l'origine des bandes d'absorption électroniques dans le spectre visible ou dans le proche ultraviolet.

Il est bien connu que les atomes les plus proches d'un ion métallique agissent sur les différents niveaux d'énergie de l'ion libre; dans le cas du nickel hexacoordonné on peut admettre que les ligands occupent les sommets d'un octaèdre au centre duquel se trouve l'ion Ni^{++}; sous l'influence, donc, de la perturbation électrostatique exercée par les charges des groupes coordonnées situés aux sommets de cet octaèdre les 5 orbites de la couche 3*d* se répartissent en deux niveaux secondaires, l'un γ_3 d'énergie plus élevée, comprend un doublet et l'autre γ_5 d'énergie moindre est formé par un triplet.

Ci-après la représentation classique des 5 orbites du niveau 3 *d* (à gauche) et le partage de ces orbites sous l'influence du champ (à droite).

Un électron *d* a donc deux niveaux possibles d'énergie. La différence d'énergie de ces deux niveaux, $E_1 - E_2$ représente la force du champ cristallin dans le cas de complexes octaèdriques réguliers. Les transitions entre ces niveaux sont à l'origine des bandes d'absorption étudiées. Ces transitions, notons-le, bien qu'interdites par la loi de LAPORTE comme ayant lieu à l'intérieur d'une même configuration, sont rendues possibles grâce au champ cristallin.

Nous voyons donc se préciser le problème que nous nous sommes posé : d'une part déterminer la force du champ cristallin dans le cas de la sérine, de la valine et de la méthionine, ce qui permettra de classer ces acides aminés par rapport aux autres agents complexants du Ni^{++} étudiés par JORGENSEN ([30]) et d'autre part voir l'effet perturbateur de ce champ cristallin sur la position des maxima des bandes d'absorption que présente le spectre de $Ni(H_2O)_6^{++}$.

Remarquons que l'effet de différents groupes coordonnées sur le spectre d'un ion métallique comme Ni^{++} a été depuis longtemps signalé par TSUCHIDA ([28]) qui avait classé ces groupes suivant leur effet hypsochromique :

$$Br^- < Cl^- < F^- < -COO^- < H_2O < SCN^- < NH^3 < en < CN$$

or, on a constaté depuis, que le champ cristallin produit par ces groupes croissait de la gauche vers la droite ce qui explique le classement empirique de TSUCHIDA.

On peut, avant d'exposer les résultats obtenus, prévoir quelle sera l'action de la sérine et de la valine puisque le groupe carboxyle est placé à gauche de l'eau, c'est-à-dire déplace les maxima d'absorption de l'ion $Ni(H_2O)_6$ vers les plus grandes longueurs d'onde, (la force du champ cristallin est moins forte que celle exercée par l'eau), le groupe aminé est au contraire placé très à droite de l'eau, il déplacera les maxima de l'ion $Ni(H_2O)_6^{++}$ vers les plus petites longueurs d'onde; donc sous l'action simultanée d'un groupe aminé et d'un groupe carboxyle, ce sera le groupe aminé qui l'emportera et au total, les maxima seront déplacés vers les petites longueurs d'onde, moins cependant que sous l'influence de groupes aminés seuls. Ceci laisse prévoir que les acides aminés de même type que le glycocolle doivent avoir le même comportement quant aux déplacements des bandes : les courbes d'absorption de leurs complexes avec le nickel doivent présenter des maxima presque rigoureusement à la même longueur d'onde.

Enfin, les complexes $Ni(en)_3$ et $Ni(NH_3)_6^{++}$ doivent avoir des bandes d'absorption très déportées vers les petites longueurs d'onde par rapport à celles de $Ni(H_2O)_6^{++}$ le tableau XI rassemble les valeurs remarquables des spectres d'absorption de différents complexes de l'ion Ni^{++} avec leurs paramètres λ en $m\mu$, ν en cm^{-1}, indication de l'intensité du champ cristallin en cm^{-1} et notation des états excités.

TABLEAU XI

Complexes	λ_{max}	ν_{max}
Notation des états exités	$m\mu$	cm^{-1}
$Ni(H_2O)_6$ $(E_1 - E_2) = 8\,500\ cm^{-1}$		
$^3\Gamma_5(F)$	1 180	8 500
$^3\Gamma_4(F)$	725	13 790
$^1\Gamma_3(D)$	650	15 400
$^3\Gamma_4(P)$	395	25 300
$Ni(sérine)_2(H_2O)_2$ $(E_1 - E_2) = 10\,000\ cm^{-1}$		
$^3\Gamma_5(F)$	1 000	10 000
$^3\Gamma_4(F)$	620	16 129
$^3\Gamma_4(P)$	370	27 027
$Ni(valine)_3$ $(E_1 - E_2) = 10\,100\ cm^{-1}$		
$^3\Gamma_5(F)$	990	10 100
$^1\Gamma_3(D)$	760	13 150
$^3\Gamma_4(F)$	602	16 600
$^3\Gamma_4(P)$	360	27 770
$Ni(méthionine)_3$ $(E_1 - E_2) = 10\,050\ cm^{-1}$		
$^3\Gamma_5(F)$	995	10 050
$^1\Gamma_3(D)$	760	13 150
$^3\Gamma_4(F)$	608	16 447
$^3\Gamma_4(P)$	360	27 770
$Ni(glycocolle)_3$ $(E_1 - E_2) = 10\,100\ cm^{-1}$		
$^3\Gamma_5(F)$	990	10 100
$^3\Gamma_3(D)$	763	13 100
$^3\Gamma_4(F)$	602	16 600
$^3\Gamma_4(P)$	362	27 600
$Ni(NH_3)_6$ $(E_1 - E_2) = 10\,800\ cm^{-1}$		
$^3\Gamma_5(F)$	930	10 750
$^1\Gamma_3(D)$	760	13 150
$^3\Gamma_4(F)$	571	17 500
$^3\Gamma_4(P)$	355	28 200
$Ni(en)_3$ $(E_1 - E_2) = 11\,600\ cm^{-1}$		
$^3\Gamma_5(F)$	890	11 200
$^1\Gamma_3(D)$	805	12 400
$^3\Gamma_4(F)$	542	18 350

Ce tableau permet de voir que les complexes de la valine, du glycocolle et de la méthionine avec le nickel ont le même spectre ainsi que le prévoyait la théorie.

Notons que le spectre du complexe

$$Ni\,(sérine)_2(H_2O)_2$$

a une position intermédiaire entre le spectre de $Ni(H_2O)_6^{++}$ et celui des complexes des acides aminés de forme NiR_3, ceci est très normal, les ligands correspondant à un complexe mixte comme

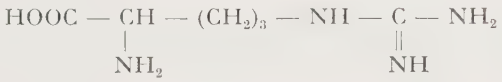
$$Ni\,(sérine)_2(H_2O)_2$$

ont dans la série spectrochimique une place qui est sensiblement la moyenne des positions des ligands simples.

Application de l'étude du champ cristallin.

L'étude de l'effet perturbateur de différents groupes comme NH_2 et COOH sur le spectre de l'ion nickel hydraté peut permettre dans certains cas d'obtenir quelques indications sur le mode de liaison avec le nickel de certains acides aminés dans la formule desquels se trouvent en plus du COO^- et du NH_2 certains groupements susceptibles de se lier à l'ion nickel. Nous prendrons l'arginine comme exemple.

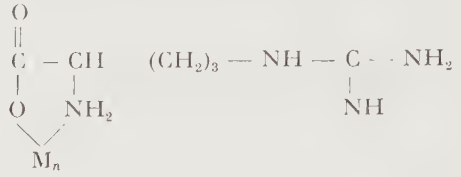
La formule de l'arginine montre qu'elle est formée de deux parties : un groupement qui provient de l'ornithine et un deuxième groupement qui dérive de la guanidine :



partie dérivée de l'ornithine. partie dérivée de la guanidine.

La question qui se pose est de savoir comment va se comporter l'arginine lors de la formation de complexes avec les cations bivalents : va-t-elle se lier par la partie ornithine ou par la partie guanidine ou par les deux à la fois?

Nous avons étudié le spectre d'un mélange de 3 parties d'arginine pour une de nitrate de nickel à pH 10, et avons constaté qu'il est rigoureusement semblable à ceux des complexes Ni(glycocolle)$_3$, Ni (valine)$_3$ et Ni(méthionine)$_3$. Ce résultat permet, semble-t-il, d'affirmer que les groupements donneurs d'électrons sont exactement les mêmes dans l'arginine que dans les trois acides aminés ci-dessus mentionnés; à savoir les groupements — COO^- et NH_2, avec le groupe NH_2 placé en α par rapport au groupe — COO^-; c'est donc la partie ornithine seule qui se lierait au nickel. On aboutit à la même conclusion si l'on étudie la dégradation de l'arginine en ornithine et urée : on constate que cette réaction se fait grâce à une enzyme, l'arginase qui contient du manganèse; de plus, cette dégradation est inhibée en présence d'autres acides α aminés; il est donc probable, par conséquent, que le métal est coordonné avec la partie ornithine plutôt qu'avec la partie guanidine



et l'inhibition par les aminoacides serait due à une compétition avec l'arginine pour entrer dans un complexe avec l'ion métallique.

L'étude des spectres d'absorption permet, en outre, de mettre en évidence des modifications dans la structure des complexes; c'est ainsi que certains auteurs ont pensé que les acides aminés en β ne formaient pas des chélates avec les cations bivalents ([32]), nous avons remarqué en effet que, alors que les complexes des acides α-aminés avec le Ni^{++} ont tous le même spectre, celui de la β-alanine avec le Ni^{++} se différencie nettement quant à la position des bandes, il est donc certain que cet acide aminé ne se complexe pas de la même façon que les acides α-aminés.

4° Conclusions.

De la comparaison des valeurs des constantes des complexes formés entre l'ion Ni^{++} et différents acides aminés avec celles des constantes des complexes formés dans les systèmes Ni^{++}-éthylènediamine et Ni^{++}-ammoniaque, on peut conclure que l'effet de chélation est plus faible dans le cas des complexes des systèmes Ni^{++}-acides aminés.

L'étude de l'effet du champ cristallin créé par les acides aminés sur les différents niveaux d'énergie de l'ion Ni^{++} a permis d'expliquer la similitude des spectres d'absorption des complexes de l'ion Ni^{++} avec les différents acides aminés étudiés dans ce travail.

V. — Influence du solvant, à différentes températures sur les constantes de dissociation de la méthionine et de la valine et sur celles de leurs complexes avec l'Ion Ni^{++}

1° Introduction.

Nous avons vu que lorsqu'une molécule d'acide aminé formait un complexe avec l'ion Ni^{++}, cette molécule remplaçait deux des six molécules d'eau liées à l'ion Ni^{++}. Une complexion plus poussée équivaut au remplacement complet des 6 molécules d'eau de $Ni(H_2O)_6^{++}$ par trois molécules d'amino acide. Nous avons pu constater alors que la théorie du champ cristallin rendait compte de l'importance de cet effet de substitution; il était donc particulièrement intéressant de préciser cette façon de voir en étudiant les mêmes complexes mais dans des mélanges de moins en moins riches en eau dans lesquels il y a tout lieu de penser que l'ion Ni^{++} n'est plus solvaté surtout si l'on remplace l'eau par un solvant de basse constante diélectrique.

Autrement, dit les constantes des complexes que nous avons déterminées en solution aqueuse correspondaient à l'équilibre suivant :

$$Ni(H_2O)_6^{++} + xR^- \rightleftharpoons [Ni(H_2O)_{6-2x}R_x]^{2-x} + 2xH_2O \qquad (7)$$

(x variant de 1 à 3)
alors que dans un solvant de basse constante diélectrique l'équilibre qui s'établit au sein de la solution est

$$Ni^{++} + xR^- \rightleftharpoons NiR^{2-x} \qquad (8)$$

auquel correspond la constante intrinsèque du complexe mais il faut toutefois remarquer que l'équilibre (8) n'est réalisé que si le groupement complexant reste le même qu'en milieu aqueux or il est probable que la structure de l'acide aminé va être affectée par le changement de solvant.

Le dioxanne ayant une faible constante diélectrique (K = 2,209 à 25°) était tout indiqué pour effectuer une étude des complexes Ni^{++} acide aminé en milieu non aqueux, mais les acides aminés se sont révélés être insolubles dans le dioxanne pur; c'est pourquoi nous avons aussi utilisé le système eau-alcool méthylique jusqu'à 100 % d'alcool méthylique en poids.

La méthode de détermination des constantes de formation des complexes est celle de Bjerrum, le principe de cette méthode a été exposée précédemment (article II), elle nécessite la connaissance du pH en chaque point de la courbe de titrage du mélange acide aminé-nickel par la potasse, or la détermination du pH dans les solutions non aqueuses présente certaines difficultés qui ne sont pas d'ordre pratique car on a constaté que les électrodes de verre et à hydrogène se comportaient de façon satisfaisante en solution contenant de très larges concentrations de non électrolytes, mais d'ordre théorique : en effet déterminons les f.e.m. E_x et E_r des chaînes suivantes

— Ag/AgCl, HCl m/verre/solution
X en solution non aqueuse
//KCl sat(eau)/Hg_2Cl_2/Hg^+
π

— Ag/AgCl, HCl m/verre/solution
R de pH connu en milieu aqueux
//KCl sat (eau)/Hg_2Cl_2/Hg^+
π'

π et π' sont les potentiels de jonction liquide.

R est une solution de pH connu avec précision faisant partie de l'échelle de référence établie par MacInnes et ses coll. ([18]). Connaissant E_x et E_r on

peut appliquer l'équation suivante :

$$pH_{(x)} - pH_{(R)} = \frac{E_x - E_R}{2{,}3\frac{RT}{\mathcal{F}}} \qquad (26)$$

et obtenir une valeur du pH mais il est impossible d'identifier ce nombre à — log [H+]. Une des raisons pour lesquelles on ne peut le faire réside dans l'existence des potentiels de jonction liquide π et π' qui sont très différents, les jonctions n'étant pas de même nature.

Ces potentiels de jonction liquide ne peuvent être évalués : par conséquent, appliquer l'équation (26) n'a pas de sens.

On peut opérer de la façon suivante :

— Ag/AgCl, HCl m/solution X en milieu non aqueux D
//KCl sat en milieu non aqueux D/Hg_2Cl_2 . Hg^+
π''

— Ag/AgCl, HCl m/verre/solution R' de pH
connu en milieu non aqueux D
//KCl sat en milieu/Hg_2Cl_2 . Hg^+
π''' non aqueux D

précisons que le milieu non aqueux D a la même composition quelle que soit la chaîne considérée. Dans ce cas π'' doit être très voisin de π'''. Mais il faut connaître la valeur de — log [H+], dans le solvant considéré, de quelques solutions qui seront les solutions de référence R' et qui constitueront une échelle de pH valable uniquement pour ce solvant.

Pour l'alcool méthylique, un ensemble de solutions de pH connus avec précision a été fourni par C. L. de Ligny et P. F. M. Luykx ([33]) ce sont ces valeurs qui nous ont servi de référence.

Pour le dioxanne, nous avons obtenu une échelle de pH à l'aide des valeurs K_A' et K_B' de dissociation du glycocolle en fonction du pourcentage de dioxanne, ces constantes ayant été déterminées par Harned et coll. ([34]), on calcule dans chaque mélange eau-dioxanne, le pH correspondant à chaque addition b d'acide ou de base lors du titrage du glycocolle à la concentration a en utilisant les équations :

$$pH = pK_A' + \log\frac{a-b}{b}$$

$$pH = pK_B' + \log\frac{b}{a-b}$$

Ce sont, remarquons-le, des équations simplifiées valables tant que la solution n'est ni trop acide ni trop basique.

Notons que l'on peut également obtenir des solutions de pH connus en titrant l'acide acétique par une base puisque sa constante de dissociation pour différents systèmes eau-dioxanne est connue. Nous avons vérifié que les pH mesurés en utilisant comme référence l'une ou l'autre de ces séries de solutions coincidaient parfaitement.

2° Appareillage et solutions.

Nous avons utilisé pour les mesures de f.e.m. un pHmètre Radiometer n° 3 permettant d'apprécier les f.e.m. à 0,5 mV près. L'électrode de mesure est une électrode verre Radiometer type G 102 B. Afin de diminuer le plus possible le potentiel de diffusion, l'électrode de référence a été construite avec le même solvant que celui de la solution à étudier. Nous avons employé soit Hg, Hg_2Cl_2, KClsat soit Hg, Hg_2Cl_2 LiClsat (ce qui est plus avantageux car LiCl est plus soluble que KCl dans les solvants non aqueux et en outre dans certains cas nous avons dû ajouter du chlorate de potassium de façon à rendre la solution plus conductrice.)

Le dioxanne utilisé a été bidistillé et employé immédiatement car il a tendance à former des peroxydes.

Le méthanol a été également bidistillé. Les traces d'eau résiduelles dans ces deux solvants ont été dosées par la méthode de Karl Fischer et celle de Koroskaya ([35]) toutes deux ont donné des résultats identiques. On a pu alors constater que la teneur en eau du méthanol était négligeable. On a tenu compte de la teneur en eau du dioxanne (1,2 %) dans le calcul du pourcentage du dioxanne dans les mélanges eau-dioxanne.

3° Étude de la méthionine de la valine et de leurs complexes avec l'ion Ni^{++} dans différents mélanges eau-dioxanne.

Avant d'entreprendre l'étude des complexes nickel-méthionine et nickel-valine, il faut connaître les valeurs des constantes de la méthionine et de la valine pour chaque pourcentage de dioxanne; on y parvient en mesurant les variations du pH au cours du titrage de l'acide aminé par la potasse et par l'acide chlorhydrique.

Le pK_A' et le pK_B' de la valine et de la méthionine sont liés au pH par les formules :

$$pK_A' = pH + \log\frac{b - (H^+)}{a - b + (H^+)}$$

$$pK_B' = pH - \log\frac{a - b + (OH^-)}{b - (OH^-)}$$

Le tableau suivant donne deux exemples du calcul des pK_A' et pK_B' de la méthionine à partir de deux courbes de titrages

Titrage par HCl 0,568 M *de* 40 *cm³ méthionine* 0,047 M.
$t = 10°$
44,6 % de dioxanne

*cc*HCl	pH	pK_A'	
0,25	4,46	3,37	
0,50	4,03	3,27	
0,75	3,78	3,24	
1,00	3,58	3,27	
1,25	3,41	3,18	
1,50	3,25	3,15	moyenne
1,75	3,12	3,22	3,21 ± 0,025
2,00	3,00	3,22	
2,25	2,85	3,20	
2,50	2,72	3,22	
2,75	2,60	3,23	
3,00	2,42	3,29	

Titrage par KOH 0,42 M *de* 40 *cm³ méthionine* 0,47 M.
$t = 40$ °C
44,6 % de dioxanne

*cc*HOH	pH	pK_B	
0,25	8,16	9,39	
0,50	8,53	9,43	
0,75	8,68	9,38	
1,00	8,88	9,42	
1,25	9,03	9,44	moyenne
1,50	9,11	9,41	9,41 + 0,01
2,00	9,32	9,41	
2,50	9,52	9,42	
2,75	9,62	9,42	
3,00	9,72	9,41	
3,25	9,89	9,47	
3,50	10,01	9,46	

Le tableau XII donne l'ensemble des résultats obtenus pour trois pourcentages différents (exprimés en poids) avec rappel des résultats obtenus dans l'eau (*).

Une étude analogue avec la valine a donné les résultats suivants :

TABLEAU XII

Valeurs des constantes de dissociation de la méthionine à différentes températures en fonction du % en poids de dioxanne.

t °C		0 %	44,6 %	59,7 %	69 %
10°	pK_B'	9,73	10,10	10,60	»
	pK_A'	2,13	3,17	3,52	»
15°	pK_B'	9,58	9,99	10,46	11,05
	pK_A'	2,13	3,14	3,52	3,94
25°	pK_B'	9,28	9,75	10,19	10,83
	pK_A'	2,12₅	3,09	3,51	3,88
30°	pK_B'	9,15	9,66	10,07	10,72
	pK_A'	2,12₅	3,04	3,50	3,84
40°	pK_B'	8,92	9,42	9,84	10,51
	pK_A'	2,12	3,01	3,49	3,77

TABLEAU XIII

Valeurs des constantes de dissociation de la valine à différentes températures en fonction du % en poids de dioxanne.

t °C		0 %	44,6 %	59,7 %	69 %
10°	pK_B'	10,04	10,52	11,00	—
	pK_A'	2,33	3,15	3,74	—
15°	pK_B'	9,90	10,40	10,86	11,46
	pK_A'	2,33	3,15	3,73	4,05
25°	pK_B'	9,62	10,18	10,57	11,18
	pK_A'	2,32	3,12	3,72	4,04
30°	pK_B'	9,49	10,06	10,43	11,06
	pK_A'	2,32	3,10	3,72	4,03
35°	pK_B'	9,38	9,96	10,29	10,94
	pK_A'	2,32	3,09	3,71	4,02
40°	pK_B'	9,25	9,86	10,16	10,83
	pK_A'	2,32	3,08	3,71	4,02

Les valeurs des constantes de la méthionine et de la valine étant déterminées, on peut alors étudier les complexes formés entre la méthionine et le Ni^{++} d'une part, la valine et le Ni^{++} d'autre part. Les résultats obtenus sont consignés dans les tableaux suivants.

TABLEAU XIV

Valeurs des constantes de formation des complexes Ni^{++}*-méthionine à différentes températures en fonction du % de dioxanne (en poids).*

t °C	log k'_n	0 %	44,6 %	59,7 %	69 %
10°	log k_1'	5,77	»	7,41	»
	log k_2'	4,87	»	6,71	»
	log k_3'	2,80	»	»	»
15°	log k_1'	5,70	»	7,36	8,48
	log k_2'	4,78	»	6,66	7,13
	log k_3'	2,73	»	»	4,79
25°	log k_1'	5,56	6,84	7,30	»
	log k_2'	4,63	5,91	6,55	»
	log k_3'	2,63	3,94	»	»
30°	log k_1'	5,46	6,81	7,26	8,43
	log k_2'	4,59	5,85	6,49	7,09
	log k_3'	2,45	3,87	5,68	»
40°	log k_1'	5,39	6,70	7,21	8,39
	log k_2'	4,48	5,70	6,41	6,86
	log k_3'	2,37	3,74	5,55	4,19

(*) Notons que les valeurs rassemblées dans les tableaux XII à XV sont les moyennes des valeurs fournies par de nombreux titrages.

TABLEAU XV

Valeurs des constantes de formation des complexes Ni^{++} *valine à différentes températures en fonction du % de dioxanne (en poids).*

$t°$ C	log k_n	0 %	44,6 %	59,7 %	69 %
10°	log k_1'	5,62	7,01	7,57	»
	log k_2'	4,48	5,66	6,62	»
	log k_3'	2,66	3,69	4,98	»
15°	log k_1'	5,54	6,96	7,51	8,57
	log k_2'	4,40	5,62	6,53	7,28
	log k_3'	2,61	3,65	»	4,44
25°	log k_1'	5,45	6,87	7,38	8,40
	log k_2'	4,27	5,56	6,31	7,04
	log k_3'	2,48	3,58	»	4,30
30°	log k_1'	5,37	6,81	7,34	8,31
	log k_2'	4,16	5,50	6,22	6,93
	log k_3'	2,43	3,53	»	4,24
35°	log k_1'	5,34	6,79	7,25	8,23
	log k_2'	4,12	5,48	6,10	6,84
	log k_3'	2,38	3,48	»	4,18
40°	log k_1'	5,31	6,76	7,18	8,17
	log k_2'	4,08	5,45	5,98	6,74
	log k_3'	2,32	3,45	4,12	4,13

Le tableau XVI et les figures 18 et 19 donnant les variations des pK des acides aminés et des constantes de formation des complexes Ni^{++}-méthionine et Ni^{++}-valine en fonction du pourcentage de dioxanne vont permettre de tirer les conclusions de cette étude.

Le tableau XVI permet de constater que, d'une manière générale, les entropies de formation des complexes Ni^{++} méthionine et Ni^{++} valine sont beaucoup plus élevées dans le milieu eau-dioxanne que dans l'eau pure, il en est de même pour les entropies de formation des groupes — COOH et $— NH_3^+$ de

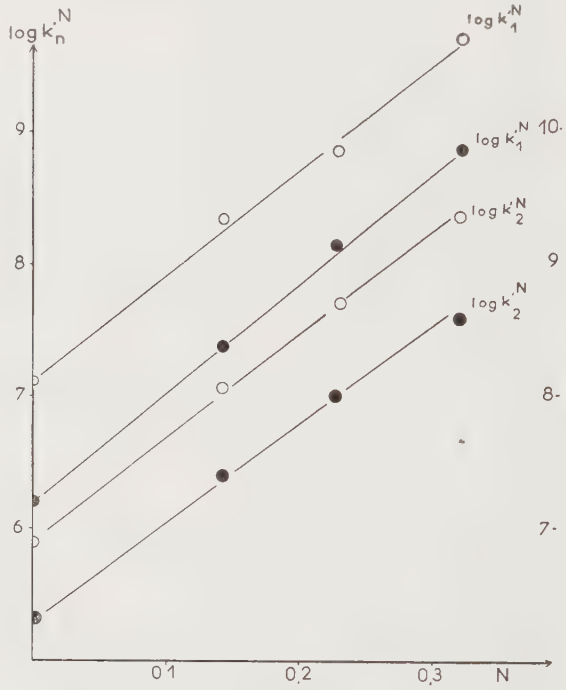


Fig. 18.

—○— système Ni^{++}-valine échelle de gauche
—●— système Ni^{++}-méthionine échelle de droite

TABLEAU XVI

	t = 25 °C	0 % dioxanne ΔH_0 k.cal mole^{-1}	0 % dioxanne ΔS_0 cal.mole^{-1} degré$^{-1}$	44,6 % dioxanne ΔH_0 k.cal mole^{-1}	44,6 % dioxanne ΔS_0 cal.mole^{-1} degré$^{-1}$	59,7 % dioxanne ΔH_0 k.cal mole^{-1}	59,7 % dioxanne ΔS_0 cal.mole^{-1} degré$^{-1}$	69 % dioxanne AH_0 k.cal mole^{-1}	69 % dioxanne AS_0 cal.mole^{-1} degré$^{-1}$
méthionine	$Ni^{++} + R^- \rightleftharpoons NiR^+$	— 5,17	8,1	— 4,00	17,9	— 3,00	23,3	»	
	$NiR^+ + R^- \rightleftharpoons NiR_2$	— 5,17	3,9	— 6,00	6,9	— 4,00	— 16,6	»	
	$NiR_2 + R^- \rightleftharpoons NiR_3^-$	— 6,42	— 9,5	— 5,50	— 0,4	»	»	»	
valine	$Ni^{++} + R^- \rightleftharpoons NiR^+$	— 4,33	10,4	— 3,75	— 16,6	— 5,00	17,1	— 7,17	14,4
	$NiR^+ + R^- \rightleftharpoons NiR_2$	— 5,42	1,4	— 3,25	14,4	— 8,25	1,3	— 8,50	3,7
	$NiR_2 + R^- \rightleftharpoons NiR_3^-$	— 4,50	— 3,8	— 3,75	3,7	»	»	— 5,17	2,3
méthionine	$^+H_3N — R — COO^- \rightleftharpoons H_2N — R — COO^- + H^+$	10,40	— 7,5	9,3	— 13,2	10,10	— 12,8	9,00	— 19,4
	$^+H_3N — R — COOH \rightleftharpoons {}^+H_3N — R — COO^- + H^+$	0,14	— 9,3	3,5	— 2,3	0,65	— 13,9	3,05	— 7,5
valine	$^+H_3N — R — COO^- \rightleftharpoons H_2N — R — COO^- + H^+$	10,65	— 8,8	8,9	— 16,7	11,25	— 10,6	10,00	— 17,6
	$^+H_3N — R — COOH \rightleftharpoons {}^+H_3N — R — COO^- + H^+$	0,06	— 10,3	0,1	— 10,7	0,5	— 15,4	0,50	— 16,8

la valine et de la méthionine (remarquons que pour ces acides aminés nous avons consigné dans le tableau précédent, les entropies de dissociation et non de formation).

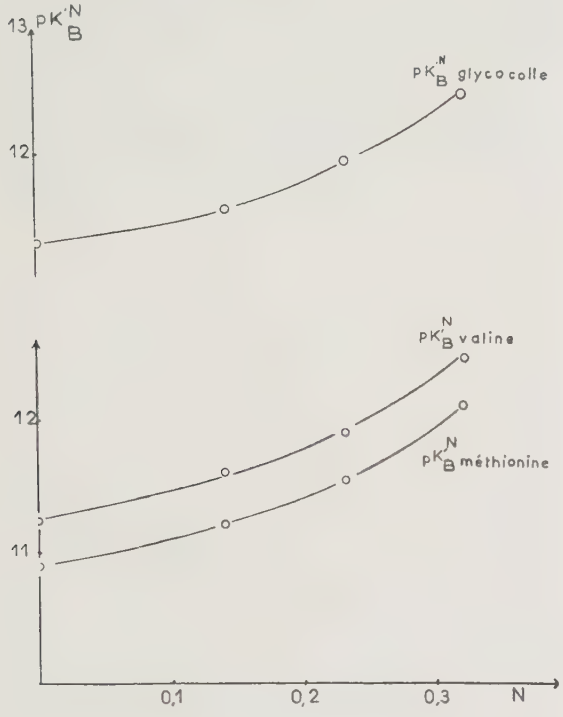


Fig. 19.

Ceci est un fait signalé par plusieurs auteurs ([36]) c'est ainsi que les entropies de formation de l'acide acétique et de l'acide formique ont des valeurs supérieures de 9 à 10 cal. mole^{-1} degré$^{-1}$ à celles correspondant au milieu aqueux. Peut-être est-ce dû en partie au fait que dans un solvant mixte il y a comme un choix parmi les molécules qui le composent : les molécules d'eau beaucoup plus polaires, forment un agrégat autour de l'ion Ni^{++} et du premier complexe NiR^{+}, cette sélection n'a pas lieu autour du complexe NiR_2 : on devrait donc s'attendre à ce que l'effet de la constante diélectrique du milieu sur les constantes de formation des complexes soit plus marqué pour le complexe 1 — 1 chargé que pour le complexe 1-2 non chargé or l'examen de la figure 18 permet de conclure qu'il n'en est rien : jusqu'à 70 % en poids de dioxanne log k'^{N} varie linéairement avec la fraction molaire du dioxanne, quel que soit le complexe étudié et les droites obtenues ont sensiblement la même pente. Nous devons préciser que sur cette figure nous avons porté le logarithme des constantes de formation des complexes de la valine et de la méthionine avec le nickel en fonction de la fraction molaire de dioxanne N, ces constantes étant exprimées dans l'échelle des fractions molaires à l'aide de la formule suivante :

$$\log k'^{N} = \log k'^{m} + \log\left(\frac{1000\, d_0}{M_0}\right) \qquad (27)$$

k'^{m} représente les constantes déterminées jusqu'à présent en utilisant comme échelle de concentration la molarité. d_0 et M_0 sont respectivement la densité et le poids moléculaire moyen du solvant :

$$M_0 = \frac{100}{\frac{X}{M_D} - \frac{100 - X}{M_{H_2O}}}$$

M_D et M_{H_2O} étant les poids moléculaires du dioxanne et de l'eau, X le pourcentage en poids du dioxanne dans le solvant.

Dans le cas des solvants mixtes il est en effet nécessaire d'utiliser l'échelle des fractions molaires si l'on veut mettre en évidence l'influence de la variation de composition du solvant.

La figure 19 permet de constater que les variations des pK_B' de la méthionine et de la valine en fonction de la fraction molaire du dioxanne ne sont plus linéaires et sont tout à fait comparables à celle du glycocolle (courbe établie d'après les données de Harned) ce qui laisse supposer dans la méthionine et la valine comme dans le glycocolle que, au fur et à mesure de la diminution de la teneur en eau du solvant, les ions mixtes de l'acide diminuent tandis que les molécules neutres augmentent.

4° Étude de la valine et de ses complexes avec l'ion Ni^{++} dans différents mélanges eau-alcool méthylique.

L'étude des complexes acides aminés-nickel dans le système eau-alcool méthylique a été limité à ceux formés entre la valine et l'ion nickel, la méthionine et la sérine étant trop peu solubles dans l'alcool pur.

La méthode de détermination des constantes de ces complexes est toujours celle de Bjerrum, les résultats obtenus sont consignés dans le tableau XVIII mais auparavant il a été nécessaire de déterminer les valeurs des constantes de dissociation de la valine en fonction du pourcentage de méthanol (voir tableau XVII).

TABLEAU XVII

Valeurs des constantes de dissociation de la valine à 25° en fonction du pourcentage de méthanol (en poids).

	0 %	39 1 %	70 %	90 %	100 %
pK_A'	2,32	2,96	3,55	4,36	6,41
pK_B'	9,62	9,60	9,58	10,13	11,69

TABLEAU XVIII

Valeurs des constantes de formation des différents complexes Ni^{++} *valine, à 25°, en fonction du pourcentage de méthanol.*

	0 %	39,1 %	70 %	90 %	100 %
$\log k_1'$	5,45	5,85	6,52	»	»
$\log k_2'$	4,27	4,85	5,33	»	»
$\log k_3'$	2,48	3,07	3,73	»	»

Afin de mieux faire apparaître l'influence du solvant nous avons, en appliquant la formule (27), exprimé les constantes précédentes dans l'échelle des fractions molaires. Les variations de ces nouvelles constantes k'^N en fonction de la fraction molaire N du méthanol sont représentées figures 20 et 21.

L'examen du tableau XVII et de la figure 20 montre que tant que l'on ne dépasse pas 90 % de méthanol (N = 0,735) le pK'^N_A de la valine change peu, il en est de même pour le pK'^N_B (non représenté sur la figure 20). Ceci était à prévoir: dans les mélanges

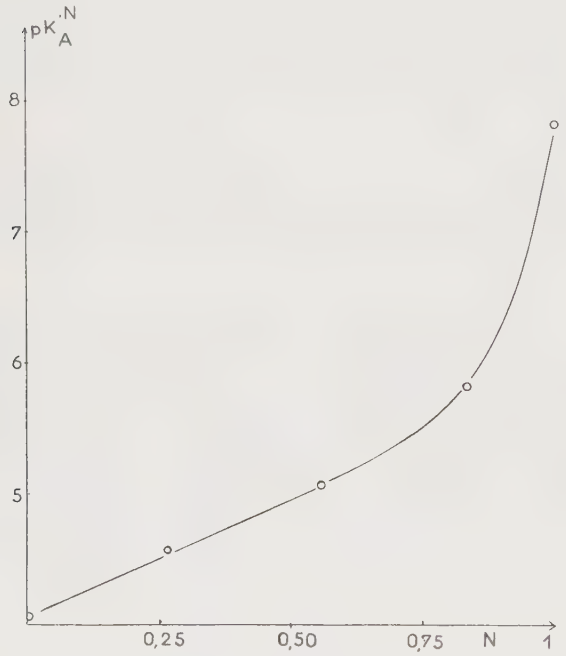


Fig. 20.

eau-alcool, les molécules du solvant en contact avec un ion sont toujours les plus polaires (c'est-à-dire l'eau) même s'il y a 90 % d'alcool, ce n'est que lorsqu'on dépasse ce pourcentage que l'influence du changement de solvant se fait fortement sentir (de 90 à 100 %, le pK'^N_A 2 untiés varie de alors que de 0 à 90 % la variation est seulement de 1,74. L'effet de solvant est encore plus frappant pour le pK'^N_B puisqu'il augmente seulement de 0,28 unité quand la teneur en méthanol passe de 0 à 90 % et augmente de 1,48 lorsqu'à partir de 90 % on aboutit au méthanol pur).

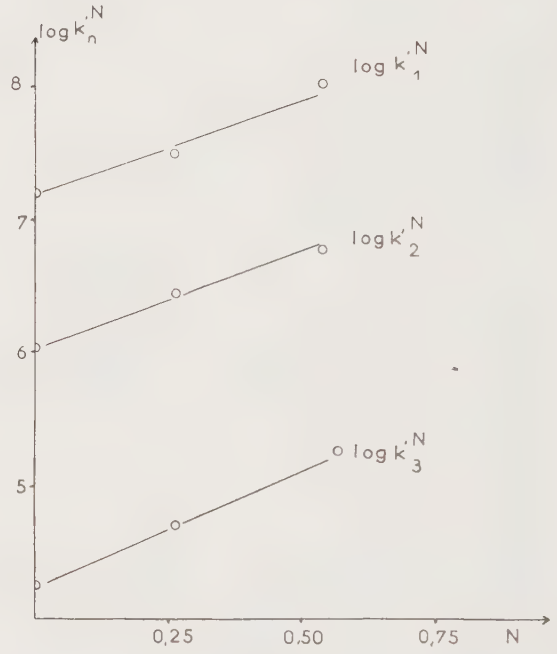


Fig. 21.

Cette allure de courbe laisse à penser que la structure de l'acide aminé change lorsque la teneur en méthanol devient importante, les ions mixtes prédominant dans l'eau diminueraient au profit des molécules neutres. Cette modification de la structure a été démontrée, dans le cas du glycocolle, dans les mélanges riches en dioxanne, il est donc probable que ce phénomène aurait lieu également dans le méthanol; cette observation est très importante pour interpréter les résultats consignés dans le tableau XVIII. On remarque, en effet, que ce tableau est incomplet, nous n'avons pas porté les résultats de l'étude faite dans le méthanol à 90 et 100 % car dans ces milieux, les valeurs des constantes obtenues en utilisant la méthode de Bjerrum n'ont plus aucun rapport avec celles obtenues dans des milieux moins riches en méthanol, il faut par conséquent supposer que les hypothèses faites jusqu'à présent en appliquant cette méthode ne sont plus valables, (on supposait que les complexes Ni^{++} valine étaient des chélates car l'acide aminé fournissait, en milieu alcalin, des ions R^- agents bidentates). Or, comme nous l'avons fait remarquer ci-dessus, il est

très vraisemblable que l'acide aminé dans le méthanol, existe surtout sous forme de molécules neutres qui ne seraient plus capables de se chélater avec le nickel, mais formeraient des complexes simples à la façon de l'ammoniaque.

On peut imaginer aussi que les groupes — COO^- et NH_3^+ de l'acide aminé réagissent entre eux auquel cas aucune complexion avec l'ion nickel ne pourrait avoir lieu. En effet, G. M. Barrow ([37]) a démontré, dans une étude IR de la diéthylglycine, que lorsqu'on abaissait la constante diélectrique du solvant il y avait cyclisation de l'acide aminé.

5° Conclusions.

De l'étude faite ci-dessus on peut conclure que l'influence du changement de solvant se fait sentir surtout lorsque le pourcentage de l'eau s'abaisse en dessous de 10 %, on assiste alors à un brutal changement dans le comportement de l'acide aminé; il est vraisemblable que c'est la molécule neutre qui prédomine alors et cette molécule ne peut plus former de chélates avec l'ion Ni^{++} et même il ne serait pas impossible qu'une cyclisation de cette molécule ait lieu.

VI. — Détermination, à différentes températures, des constantes de dissociation de l'arginine et de celles de ses complexes avec certains ions métalliques.

Afin de mettre en évidence le rôle de l'ion métallique dans la complexion, nous avons entrepris l'étude des complexes formés entre l'arginine et 12 ions métalliques en fonction de la température. Cette étude nécessitait la connaissance des constantes de l'arginine dans le même domaine de température, ne les ayant pas trouvées dans la littérature nous les avons déterminées.

1° *Appareillage, solutions, produits.*

La qualité des produits et les conditions dans lesquelles les solutions sont faites sont les mêmes que précédemment (article I).

Les mesures de pH sont faites à 0,01 unité près avec un pHmètre Radiometer n° 3.

TABLEAU XIX

Valeurs des constantes de dissociation des groupes — COOH *et* NH_3^+ *de l'arginine à différentes températures.*

	17°	25°	30°	35°	40°
pK'_B (NH_3^+)	9,27	9,05	8,92	8,80	8,67
pK'_A (COOH)	1,98	$1,97_5$	1,97	1,97	$1,96_5$

La connaissance des constantes de dissociation à plusieurs températures permet le calcul des variations d'enthalpie ΔH_0, d'énergie libre ΔG_0 et d'entropie ΔS_0 relatives à la dissociation des groupes — COOH et — NH_3^+ ces valeurs sont consignées dans le tableau XX.

TABLEAU XX

Variations d'enthalpie ΔH_0, *d'énergie libre* ΔG_0 *et d'entropie* ΔS_0 *relatives à la dissociation des groupes* — COOH *et* — NH_3^+ *de l'arginine.*

	ΔH_0	ΔG_0	ΔS_0
	*k*cal.mole^{-1}	*k*cal.mole^{-1}	cal.mole^{-1}.degré$^{-1}$
$^+H_3N - R - COO^- \rightleftharpoons H_2N - R - COO^- + H^+$	11,0	12,35	— 4,5
$^+H_3N - R - COOH \rightleftharpoons {}^+H_3N - R - COO^- + H^+$	0,40	2,69	— 7,7

2° *Détermination des constantes de dissociation de l'arginine à différentes températures. Calcul des* ΔH_0, ΔG_0, ΔS_0.

Des études de spectres d'absorption des mélanges arginine-Ni^{++} ont montré que seule la partie qui dérive de l'ornithine dans l'arginine est responsable de la complexion avec un ion métallique, c'est pourquoi nous exposerons seulement les résultats relatifs aux groupes — COOH et — NH_3^+ de cette partie.

Les courbes de titrages de l'arginine par HCl obtenues à différentes températures ont permis de déterminer ses constantes de dissociation qui sont rassemblées dans le tableau XIX.

Notons que ces valeurs sont très voisines de celles obtenues pour d'autres acides aminés, le glycocolle par exemple.

3° *Détermination des constantes de formation des complexes Arginine-ion métallique à différentes températures. Calcul des* ΔH_0, ΔG_0, ΔS_0.

L'étude des complexes formés entre l'arginine et différents ions métalliques faites en employant la méthode de Bjerrum a permis de déterminer les valeurs des constantes de formation de ces complexes.

A titre d'exemple la figure 22 donne à 25°, quelques unes des courbes de titrage par la potase de diffé-

rents mélanges arginine-ion métallique auxquels on a ajouté parfois de l'acide nitrique, le domaine d'exis-

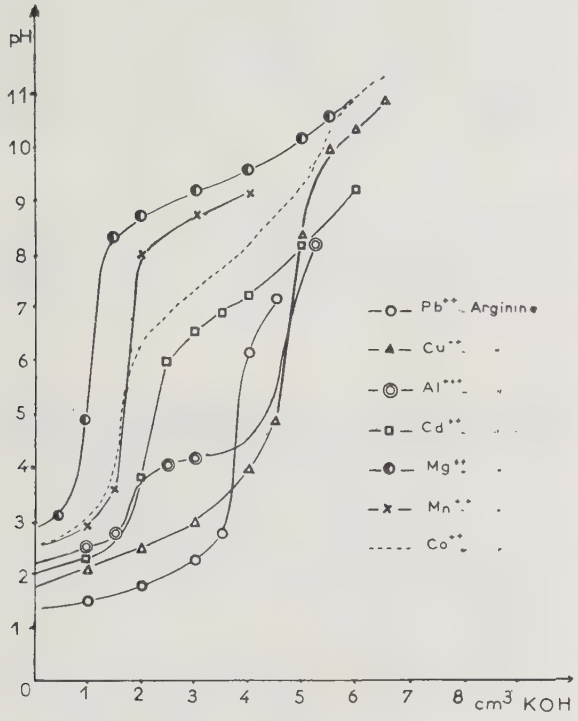


Fig. 22.

tence de certains complexes commençant très bas dans l'échelle des pH.

La figure 23 donne quelques-unes des courbes de formation obtenues.

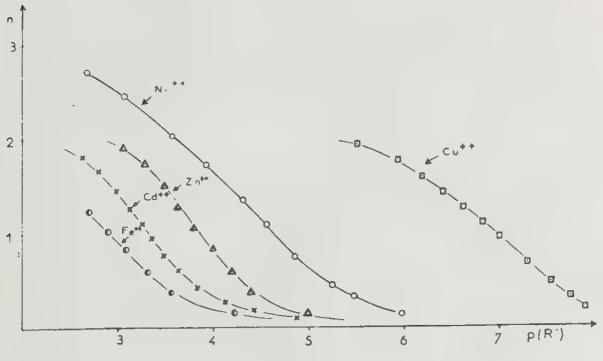


Fig. 23.

Enfin le tableau XXI groupe l'ensemble des résultats de l'étude des complexes de l'arginine avec différents ions métalliques.

L'examen du tableau XXI permet d'établir un ordre de préférence de l'arginine pour les ions métalliques qui est le suivant :

$$Fe^{+++} > Cu^{++} > Al^{+++} > Ni^{++} > Pb^{++} > Zn^{++} > Ag^{+} > Co^{++} > Cd^{++} > Fe^{++} > Mn^{++} > Mg^{++}$$

TABLEAU XXI

Valeurs des constantes de formation de plusieurs complexes arginine -ion métallique à différentes températures.

		17°	25°	30°	35°	40°
Ag^{+}	$\log k_1'$	4,12		«	«	«
	$\log k_2'$	3,95	«	«	«	«
Cu^{++}	$\log k_1'$	7,53	7,34	7,23	7,12	7,02
	$\log k_2'$	6,54	6,42	6,32	6,23	6,14
Cd^{++}	$\log k_1'$	3,31	3,27	3,25	3,22	3,19
	$\log k_2'$	3,30	3,18	3,11	3,03	2,96
Zn^{++}	$\log k_1'$	4,20	4,19	4,17	4,16	4,14
	$\log k_2'$	3,99	3,93	3,89	3,84	3,81
Mn^{++}	$\log k_1'$	«	«	«	2,64	2,60
	$\log k_2'$	«	«	«	1,94	1,90
Mg^{++}	$\log k_1'$	«	1,30	«	«	«
Pb^{++}	$\log k_1'$	4,65	«	«	4,06	3,89
	$\log k_2'$	4,03	«	«	3,36	3,19
Co^{++}	$\log k_1'$	3,79	«	3,73	3,70	3,68
	$\log k_2'$	3,10	»	«	«	2,95
	$\log k_3'$	2,10	«	«	«	2,00
Ni^{++}	$\log k_1'$	4,98	4,92	4,86	4,83	4,77
	$\log k_2'$	4,32	4,20	4,14	4,10	4,04
	$\log k_3'$	3,21	3,08	3,03	2,93	2,85
Fe^{++}	$\log k_1'$	3,29	2,86	«	«	«
Fe^{+++}	$\log k_1'$	«	7,67	«	«	«
	$\log k_2'$	«	7,53	«	«	«
Al^{+++}	$\log k_1'$	6,67	6,63	«	«	«
	$\log k_2'$	6,38	6,23	«	«	«

Maley et Mellor [1] trouvaient pour des acides aminés comme le glycocolle l'ordre ci-dessous :

$$Cu^{++} > Ni^{++} > Pb^{++} > Zn^{++} \geqslant Co^{++} > Cd^{++} > Fe^{++} > Mn^{++} > Mg^{++}$$

en bon accord par conséquent avec celui établi pour l'arginine.

Avant de passer à la comparaison des quantités ΔH_0, ΔG_0, ΔS_0 relatives à la formation des différents complexes arginine-ion métallique nous devons signaler les faits suivants :

1° Seuls de tous les complexes étudiés, les complexes arginine-Fe^{+++} existent dès pH 2. Mais les mélanges précipitent vers pH 4,5, ce qui empêche malheureusement de préciser la fin de la courbe de formation qui semble cependant atteindre la valeur 3; ceci indiquerait la tendance à la formation d'un complexe de forme $Fe(R)_3$.

Si les ions complexes Fe^{+++}-arginine se forment très bas dans l'échelle des pH, par contre ceux ou plutôt celui du Mg^{++} est mis en évidence difficilement à pH 10, son domaine d'existence est donc très limité.

Entre ces deux extrêmes se placent, par ordre de formation en fonction du pH, les complexes avec : Cu^{++} (à partir de pH 2,4), Al^{+++} (pH 3), Mn^{++} (pH 4), Ni^{++} (pH 4,5), Pb $^{++}$(pH 5), Zn^{++}, Co^{++}, Cd^{++}, Fe^{++} et Ag^{+} (pH 5,5).

2° L'étude du mélange Co^{++} arginine a été particulièrement difficile, la moindre trace d'oxygène suffisait à faire virer la couleur rose brun du mélange vers une teinte lie de vin, indiquant une modification dans le mélange complexe, ce phénomène ayant lieu uniquement dans les solutions nettement alcalines; aucun changement de coloration au contact de l'oxygène ou simplement à l'air dans le cas contraire. La figure 24 donne les spectres d'absorption 1) du nitrate de cobalt seul 2) du mélange arginine, sel de cobalt à pH $\simeq$ 10 immédiatement après avoir été préparé 3) du même mélange dix jours après.

Cette figure met en évidence un changement important du spectre du complexe dû à l'action de l'oxygène en milieu alcalin.

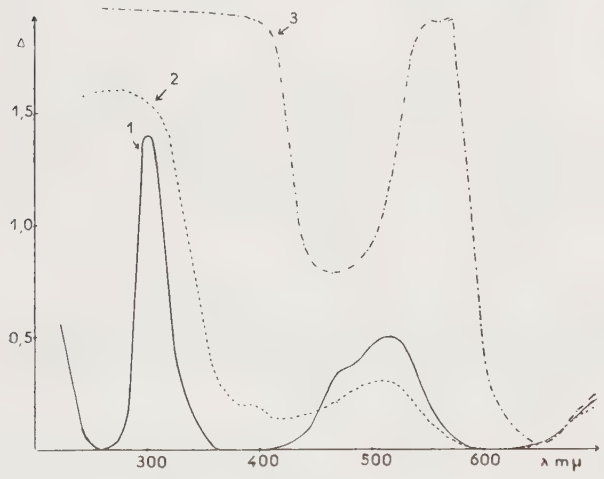


Fig. 24.

Ce n'est pas la première fois que l'on signale une action de l'oxygène sur certains complexes du cobalt, en effet Hearon et ses coll. ([38]) ont montré que le complexe Co^{++} histidine était sensible à l'oxygène et Tanford et ses coll. ([39]) ont étudié la composition du produit obtenu en faisant agir l'oxygène sur le complexe Co^{++}-glycylglycine en solution alcaline, à ce produit final ils ont attribué la formule :

$$(GG)_2Co - O - O - Co(GG)_2$$

dans laquelle GG = glycylglycine. Il est vraisemblable que dans le cas du complexe Co^{++}-arginine en solution alcaline un produit de structure analogue à celle du complexe Co^{++} glycylglycine-O est obtenu.

Détermination des variations d'enthalpie, d'énergie libre et d'entropie mises en jeu lors de la formation des complexes arginine-ion métallique.

Le tableau XXII renferme les quantités ΔG_0, ΔH_0, ΔS_0 relatives à la formation des complexes arginine ion métallique pour lesquels les constantes ont été déterminées de 5 en 5°.

Ce tableau met en évidence une diminution d'entropie progressive au fur et à mesure du remplacement des molécules d'eau attachées à l'ion métallique par l'arginine. Nous avons déjà signalé ce fait à propos des complexes de la valine, de la méthionine et de la sérine avec le Ni^{++}.

Conclusions.

Les différents complexes qui se forment entre l'ion Ni^{++} et un acide aminé comme la valine, la méthionine ou la sérine ont été mis en évidence par conductimétrie, spectrophotométrie, électrophorèse sur papier; ils sont au nombre de trois : NiR^+, NiR_2

TABLEAU XXII

	log k à 25°	$-\Delta G_0$ k.cal.mole^{-1}	$-\Delta H_0$ k.cal.mole^{-1}	ΔS_0 cal.mole^{-1}.degré$^{-1}$
$Cu^{++} + R^- \rightleftharpoons CuR^+$	7,34	10,00	9,25	2,5
$CuR^+ + R^- \rightleftharpoons CuR_2$	6,42	8,76	7,85	3,0
$Ni^{++} + R^- \rightleftharpoons NiR^+$	4,92	6,71	3,75	9,9
$NiR^+ + R^- \rightleftharpoons NiR_2$	4,20	5,73	4,75	3,3
$NiR_2 + R^- \rightleftharpoons NiR_3$	3,08	4,20	6,50	— 7,7
$Zn^{++} + R^- \rightleftharpoons ZnR^+$	4,19	5,72	1,40	14,5
$ZnR^+ + R^- \rightleftharpoons ZnR_2$	3,93	5,36	3,35	6,7
$Cd^{++} + R^- \rightleftharpoons CdR^+$	3,27	4,46	2,10	7,9
$CdR^+ + R^- \rightleftharpoons CdR_2$	3,18	4,34	6,35	— 6,7

et NiR_3^-, R^- schématisant l'ion négatif de l'acide aminé considéré.

Bien que la mesure de la concentration des ions Ni^{++} ne semble pas réalisable, à première vue, par électrométrie (le potentiel d'une électrode de Ni^{++} est trop peu reproductible) nous avons pu mettre au point une méthode électrométrique indirecte qui permet cette mesure et rend possible, par conséquent, la détermination des constantes de formation des complexes mis en évidence. Cette méthode consiste, d'une part, à associer à l'ion Ni^{++} un cation dont il existe une électrode réversible, Cd^{++}, par exemple, ces deux cations entrant en compétition pour former des chélates avec l'acide aminé, et d'autre part, à mesurer la concentration des ions Cd^{++} libres dans les mélanges Ni^{++} — Cd^{++} -acide aminé.

Les résultats obtenus par la méthode électrométrique indirecte ont été confirmés en employant deux autres méthodes : celle de Moore et Anderson et celle de Bjerrum; dans les mêmes conditions de température et de force ionique, ces trois méthodes fournissent des résultats concordants.

La connaissance des constantes de stabilité des complexes NiR^+, NiR_2 et NiR_3^- différentes températures permet le calcul des quantités thermodynamiques ΔH_0, ΔG_0, ΔS_0 relatives à la formation de ces trois complexes. De ce calcul, on peut conclure que chacune des réactions :

$$Ni^{++} + R^- \rightleftharpoons NiR^+$$
$$NiR^+ + R^- \rightleftharpoons NiR_2$$
$$NiR_2 + R^- \rightleftharpoons NiR_3^-$$

met en jeu des variations d'enthalpie pratiquement égales.

Grâce à l'étude critique des spectres d'absorption dans le domaine de l'ultraviolet et du visible, on peut expliquer pourquoi les chélates de forme NiR_3^- (R^- = glycocolle, valine, méthionine, sérine) ont exactement le même spectre : le champ cristallin créé par les groupes NH_2 et COO^- est identique dans tous les chélates cités ci-dessus et l'effet perturbateur de ce champ cristallin sur la position des maxima des bandes d'absorption du spectre de $Ni(H_2O)_6^{++}$ est par conséquent le même.

Nous pouvons aussi conclure que les trois acides aminés : sérine, méthionine, valine se chélatent de la même façon avec l'ion Ni^{++}, le groupement OH de la sérine et l'atome de soufre dans la méthionine n'ont aucune influence dans la chélation.

Au point isoélectrique dans l'eau, l'acide aminé est presqu'entièrement sous forme d'ions mixtes, il n'en est plus de même dans des solvants de basse constante diélectrique, l'acide aminé est alors surtout sous forme de molécules neutres. On doit s'attendre à des changements importants dans le mécanisme de la chélation. C'est bien ce que nous avons mis en évidence en remplaçant l'eau par le dioxanne, d'une manière partielle malheureusement puisque les acides aminés sont insolubles dans le dioxanne pur. Pour chaque pourcentage, nous avons déterminé les constantes de formation des chélates Ni-méthionine et Ni-valine à différentes températures. Le calcul des variations d'enthalpie, d'énergie libre et d'entropie mises en jeu dans ces différentes réactions permet d'aboutir à la conclusion que chaque étape de la chélation entraîne une même variation d'enthalpie; ceci semble être une loi générale qui gouverne tous les systèmes de complexes normaux c'est-à-dire des systèmes dans lesquels il n'y a pas lieu de tenir compte d'empêchements stériques tant dans l'eau que dans les milieux non aqueux.

La valine étant légèrement soluble dans l'alcool méthylique pur, nous avons pu remplacer totalement l'eau par l'alcool méthylique et mettre en évidence une très brutale variation des constantes de stabilité de ses complexes avec le nickel lorsqu'on dépasse 90 % d'alcool méthylique. De plus on constate que, dans ce domaine, les valeurs des constantes de formation obtenues en utilisant la méthode de Bjerrum n'ont plus aucun rapport avec celles obtenues pour des pourcentages inférieurs en méthanol, ces faits semblent donc prouver que les hypothèses admises jus'quà présent en appliquant cette méthode ne sont plus valables, en d'autres termes, que les complexes ne sont plus des chélates mais des complexes simples (la molécule d'acide aminé serait liée uniquement par le groupe NH_2 au Ni^{++}) et peut-être même qu'il n'y aurait plus aucune possibilité de complexion car il n'est pas exclus que dans un milieu totalement anhydre et de faible constante diélectrique, l'acide aminé se cyclise.

L'étude des complexes formés entre l'arginine et de nombreux cations métalliques a permis d'établir un ordre de préférence des ions métalliques envers cet amino-acide, cet ordre est le suivant :

$$Fe^{+++} > Cu^{++} > Al^{+++} > Ni^{++}$$
$$> Pb^{++} > Zn^{++} > Ag^{+} > Co^{++} > Fe^{++} > Mn^{++} > Mg^{++}$$

N'ayant pas trouvé dans la littérature les valeurs des constantes de dissociation de la méthionine, de la valine et de l'arginine dans les conditions réalisées dans notre étude, nous avons dû effectuer un certain nombre de déterminations de constantes :

1° Détermination des constantes de dissociation de la méthionine à différentes températures et calcul des ΔH_0, ΔG_0 et ΔS_0 relatifs aux groupes NH_3^+ et COO^- de cet acide aminé.

2° Étude de la variation des constantes de dissociation de la méthionine et de la valine en fonction du pourcentage d'une part de dioxanne (jusqu'à 70 % en poids) et d'autre part d'alcool méthylique (jusqu'à 100 %). De plus pour chaque pourcentage, une étude

de la variation des constantes de ces acides aminés a été faite en fonction de la température.

3° Détermination des constantes de dissociation des groupes NH_3^+ et COOH de l'arginine à différentes températures et calcul des ΔH_0, ΔG_0, ΔS_0 relatives à la dissociation de ces groupes qui sont seuls responsables de la chélation avec un ion métallique car nous avons montré que la partie dérivant de la guanidine dans l'arginine ne possédait pas de groupes donneurs d'électrons.

BIBLIOGRAPHIE

(1) L. E. Malley et D. P. Mellor. — *Australian Journal of Scientific Research* A2, 1949, 4, 578.
(2) H. Irving et I. P. Williams. — *J. Chem.*, 1953, 3192.
(3) J. Curchod. — *J. Chim. phys.*, 1956, **53**, 125, 182, 241, 256.
(4) P. Job. — *Ann. Chim.*, 1928, [10], **9**, 113; 1936, [11], **6**, 97.
(5) R. L. Moore et R. C. Anderson. — *J. Am. Chem. Soc.*, 1945, **67**, 167.
(6) H. E. Bent et C. L. French. — *J. Am. Chem. Soc.*, 1941, **63**, 568.
(7) L. G. Longsworth et D. A. Mac Innes. — *J. Gen. Phys.*, 1942, **25**, 507.
(8) I. M, Klotz, F. M. Walker et R. B. Pivan. — *J. Am. Chem. Soc.*, 1946, **68**, 1486.
(9) R. F. Steiner. — *Arc. Biol and Biophys.*, 1954, **49**, 400.
(10) P. L. Kirk et C. L. A. Schmidt. — *J. biol. Chem.*, 1929, **81**, 237.
(11) P. Smith, A. T. Gorham et E. Smith. — *J. biol. Chem.*, 1942, **144**, 735.
(12) J. Bjerrum. — « *Metal Ammine Formation in aqueous solution* » Hasse and Son, Copenhague, 1941.
(13) M. Quintin. — *J. chim. Phys.*, 1950, **47**, 898.
(14) P. Bretton. — *J. Chim. phys.*, 1957, **54**, 827, 837; 1958, **55**, 53, 61.
(15) M. P. Simonnin. — *J. Chim. phys.*, à paraître.
(16) D. J. Perkins. — *J. Biochem.*, 1952, **51**, 487; 1953, **55**, 649.
(17) M. Quintin. — *J. Chim. phys.*, 1956, **54**, 226.
(18) D. A. Macinnes, D. Belcher et T. Shedlovsky. — *J. Am. Chem. Soc.*, 1938, **60**, 1094.
(19) O. H. Emerson, P. L. Kirk, C. L. A. Schmidt. — *J. biol. Chem.*, 1931, **92**, 449.
(20) I. Poulsen et J. Bjerrum. — *Acta chem. scand.*, 1955, **9**, 1407.
(21) T. Davies, S. S. Singer et L. A. Staveley. — *J. chem. Soc.* London., 1954, 2304.
(22) W. M. Latimer et W. L. Jolly. — *J. Am. Chem. Soc.*, 1953, **75**, 1549.
(23) G. Schwarzenbach. — *Helv. chim. Acta.*, 1952, **35**, 2344.
(24) C. G. Spike et R. W. Parry. — *J. Am. Chem. Soc.*, 1953, **75**, 2726, 3770.
(25) A. W. Adamson. — *J. Am. Chem. Soc.*, 1954, **76**, 1578.
(26) E. Gonnick, W. C. Fernelius et B. E. Douglas. — *J. Am. Chem. Soc.*, 1954, **76**, 4672.
(27) N. C. Li et R. A. Manning. — *J. Am. Chem. Soc.*, 1955, **77**, 5225.
(28) R. S. Mulliken. — *J. chem. Phys.*, 1935, **3**, 375, 506.
(29) H. Bethe. — *Ann. Physik.*, 1929, [5], **3**, 133.
(30) C. K. Jorgensen. — *Acta chem. scand.*, 1955, **9**, 1362.
(31) R. T. Tsuchida. — *Bull. chem. Soc. Jap.*, 1938, **13**, 388, 436, 471.
(32) B. Kirson et I. Barsily. — *Bull. soc. Chimique France.*, 1957, 1336.
(33) C. L. de Ligny et P. E. M. Luykx. — *Rec. Trav. chim.*, 1956, **77**, 154.
(34) H. S. Harned et C. M. Birdsall. — *J. Am. Chem. Soc.*, 1943, **65**, 1117;
H. S. Harned et L. D. Fallon. — *ibid*, **61**, 1939, 2374.
(35) E. S. Khoroshaya. — *Zavodskaya Lab.*, 1955, **21**, 542.
(36) R. A. Robinson et Stokes. — « *Electrolyte Solution* » Academic Press Inc New-York N. Y. 1955, 504.
(37) G. M. Barrow. J. *Am. Chem. Soc.*, 1958, 80, 86.
(38) J. Z. Hearon, D. Burk et L. A. Shade. — *J. Natl. Cancer Inst.*, 1949, **9**, 337.

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

« *Mesure de potentiels avec des électrodes de membranes.* »

Vu et approuvé :
Paris, le 1er février 1959.
Le Doyen de la Faculté des Sciences,
J. PERÈS.

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris,
Jean SARRAILH.

IMPRIMÉ PAR L'IMPRIMERIE DURAND, RUE FULBERT, CHARTRES (E.-ET-L.) FRANCE (1960).